

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**UNIDAD DE POSGRADO**

**Estado situacional de *Yersinia ruckeri* causante de “la enfermedad entérica de la boca roja” en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) en piscigranjas de la sierra central del Perú - 2008**

**TESIS**

Para optar el Grado Académico de Magíster en Recursos  
Acuáticos con mención en Acuicultura

**AUTOR**

Verónica Anamaría Sierralta Chichizola

**ASESOR**

Jorge León Quispe

Lima – Perú

2011

## **AGRADECIMIENTOS**

Deseo agradecer sinceramente a todas las personas que permitieron la realización de este estudio, muy especialmente al profesor Magíster Jorge León, Dr. Enrique Mateo, Dr. Jesús Romalde y al Dr. Juan Luis Martínez por su paciencia, consejo y conducción de este trabajo.

A la Bachiller Teresa Castro por su contribución en el desarrollo práctico de esta tesis.

A los biólogos Marcos Sulca y Johana Deza por su apoyo en el análisis bacteriológico.

Al Sr. Germán Chacón y al Dr. Ignacio de Blas por su colaboración en el análisis estadístico y a la profesora Mónica Huamán por su ayuda en la corrección de textos.

## **DEDICATORIA**

A Dios porque en él encuentro fortaleza para  
seguir luchando cada día de mi vida.

A mis padres por su paciencia e incondicional  
apoyo en todo momento.

## CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABLAS	iii
ABREVIATURAS	iv
RESUMEN	
Abstract	
I. INTRODUCCIÓN	
II. ANTECEDENTES	4
III. GENERALIDADES	
3.1 Trucha arco iris	6
3.1.1 Características generales	6
3.1.2 Importancia del cultivo en el Perú	6
3.2 <i>Yersinia ruckeri</i>	7
3.3 Epidemiología de la enfermedad entérica de la boca roja	9
3.3.1 Hospedadores	9
3.3.2 Factores que intervienen en la aparición de la enfermedad	9
3.3.3 Ocurrencia de brotes	10
3.3.4 Periodo de incubación	11
3.3.5 Transmisión	11
3.4 Patogénesis	12
3.5 Signos de la enfermedad	13
3.5.1 Signos externos	13
3.5.2 Signos internos	14
3.6 Diagnóstico y detección	14
3.7 Sensibilidad antibiótica	16
3.8 Tratamiento	17
3.9 Hallazgos histopatológicos	17
3.9.1 Fase aguda	18
3.9.2 Fase crónica	19
3.10 Control	19
IV. OBJETIVOS	
4.1. Objetivo general	21

4.2. Objetivos específicos	21
<b>V. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	
5.1 Lugares de muestreo	22
5.2 Muestreo de campo	22
5.3 Muestras biológicas	23
5.4 Procesamiento en el laboratorio	23
5.5 Manipulación de las muestras	24
5.5.1 Procesamiento para el análisis bacteriológico	24
5.5.1.1 Aislamiento	24
5.5.1.2 Caracterización de colonias e identificación presuntiva	24
5.5.1.3 Pruebas bioquímicas convencionales de identificación	24
5.5.1.4 Identificación mediante el sistema API 20E	25
5.5.2 Pruebas serológicas	25
5.5.3 Sensibilidad antibiótica	26
5.5.4 Procesamiento de las muestras histológicas	26
5.6 Manejo sanitario de las piscigranjas	27
5.7 Estación temporal	27
5.8 Análisis estadístico	27
5.8.1 Frecuencia de infección de animales sintomáticos (FIAS)	28
<b>VI. RESULTADOS</b>	
6.1 Aislamiento de la bacteria <i>Yersinia ruckeri</i> .	29
6.2 Caracterización bioquímica de la bacteria.	29
6.3 Características bioquímicas con API 20E	29
6.4 Pruebas serológicas	30
6.5 Sensibilidad antibiótica	30
6.6 Estudio anatomopatológico	30
6.6.1 Signos patológicos	30

6.6.2 Lesiones histopatológicas	30
6.7 Manejo sanitario de las piscigranjas	32
6.8 Análisis global sobre la frecuencia de infección de animales sintomáticos	33
6.8.1 Factores que intervienen en la frecuencia de infección de animales sintomáticos	33
6.8.1.1 Estación temporal y frecuencia de infección de animales sintomáticos	33
6.8.1.2 Procedencia de ovas y frecuencia de infección de animales sintomáticos	34
6.8.1.3 Manejo sanitario y FIAS	34
6.8.1.4 Status de infección y temperatura del agua	34
6.9 Análisis estratificado	35
6.9.1 Análisis estratificado por origen de las ovas	35
6.9.2 Análisis estratificado por estación	35
VII. DISCUSIÓN	37
VIII. CONCLUSIONES	43
IX. RECOMENDACIONES	44
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
XI. FIGURAS	55
XII. TABLAS	66
XIII. ANEXOS	
Flujograma	85
Formulario anamnésico	86
Glosario	92

## RESUMEN

La enfermedad entérica de la boca roja (ERM), causada por el patógeno *Yersinia ruckeri*, tiene gran impacto en el cultivo de los salmónidos a nivel mundial. Esta bacteria fue descrita por primera vez en el Perú en el 2004 en cultivos de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* en la localidad de Junín.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el estado situacional del patógeno *Y. ruckeri* en cultivos intensivos de *O. mykiss* en tres piscigranjas de la sierra central del Perú durante el año 2008.

A partir de cultivos de órganos internos se logró recuperar 30 cepas del patógeno, las cuales fueron caracterizadas mediante pruebas bioquímicas para su identificación por métodos convencionales y el sistema miniaturizado API 20E. La confirmación diagnóstica incluyó pruebas serológicas de aglutinación en placas con antisueros referenciales y ensayos de "Dot Blot" utilizando antígenos O de los aislados. Con el sistema API 20E se determinó los perfiles numéricos 5104100 para 17 aislados y 5105100 para otros 11; sin embargo 2 aislados generaron el perfil 5107100 (*Hafnia alvei*, 93,3%). Las diferencias bioquímicas observadas se dieron en las pruebas de Voges-Proskauer e hidrólisis de gelatina. Todos los aislados fueron tipificados como *Y. ruckeri* serotipo O1 subgrupo a, fermentadoras de sorbitol. Las pruebas de sensibilidad antibiótica se efectuaron utilizando la técnica de Kirby-Bauer según National Committee for clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2005) frente a ácido nalidíxico (30 µg), ácido oxolínico (1 µg), ampicilina (25 µg), estreptomicina (10 µg), florfenicol (30 µg), flumequina (30 µg), furazolidona (100 µg), gentamicina (10 µg), oxitetraciclina (30 µg) y sulfatrimetoprim (25 µg). El 100% de los patógenos fueron sensibles frente a la totalidad de antibióticos utilizados en la prueba.

Los signos externos más frecuentes de la enfermedad fueron exoftalmia bilateral (31%), melanosis de la piel (20%) y abdomen distendido (17%); y entre los signos internos, intestino posterior congestionado (35,1%), ciegos pilóricos congestionados (32,5%) e hígado pálido (16,2%). De acuerdo al estudio histopatológico, se presentó edema a nivel de las lamelas branquiales (47,2%), severa reacción inflamatoria del corazón a nivel ventricular (44,4%), degeneración grasa en el hígado (47,2%), bazo congestivo (55,6%), severa necrosis del epitelio en los ciegos pilóricos (27,8%) y vellosidades necróticas del intestino (44,4%).

La frecuencia de infección por *Y. ruckeri* en animales sintomáticos fue de 85,5% en la piscigranja C, 64,7% en el centro piscícola B y 15,4% en la piscigranja A. El factor que influyó sobre la frecuencia de infección de animales sintomáticos fue la época de lluvias.

Se concluye que la enfermedad entérica de la boca roja se encuentra ampliamente diseminada en las piscigranjas de la sierra central del Perú.

**Palabras clave:** Enfermedad entérica de la boca roja, *Yersinia ruckeri*, histopatología, serotipo, sensibilidad antibiótica, trucha arco iris.



## ABSTRACT

The enteric red mouth disease, caused by the pathogen *Yersinia ruckeri*, has a great impact on salmonid culture worldwide. This bacteria was first found in Peru in 2004 in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, cultures in the department of Junin.

The objective of this study was to evaluate the status of the pathogen *Y. ruckeri* on intensive cultures of *O. mykiss* (rainbow trout), in three fish farms of the central highlands of Peru in 2008.

From culture of internal organs a total of 30 strains of the pathogen were isolated, which were characterized through biochemical assays in order to identify using conventional methods and the API 20E system. The diagnosis confirmation included agglutination serological reactions on plates using standard antiserum and "Dot Blot" assays using O antigen from the isolates. Using the API 20E system, 17 isolates showed the numeric profile 5104100 and another 11 showed the numeric profile 5105100; however 2 isolates showed the numeric profile 5107100 (*Hafnia alvei*, 93,3%). Biochemical differences were found with the Voges-Proskauer and gelatin hydrolysis assays. All of the isolates were typified as *Y. ruckeri* serotype O1 subgroup a, sorbitol-fermenters. The Kirby-Bauer technique, as per the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2005), was used to run the antibiotic sensitivity tests against nalidixic acid (30 ug), oxolinic acid (1 ug), ampicillin (25 ug), streptomycin (10 ug), florfenicol (30 ug), flumequine (30 ug), furazolidone (100 ug), gentamicin (10 ug), oxitetracycline (30 ug) and sulfatrimethoprim (25 ug). 100% of the pathogens were sensitive against all of the antibiotics used in the testing.

The most common external signs were: bilateral exophthalmia (31%), skin melanosis (20%) and distended vent (17%). Among internal signs, there were: lower intestine tract congestion (35,1%), pyloric ceca congestion (32,5%) and pale liver (18%). In the histopathological study, the most frequent lesions were: in the gill, edematous lamellae (47,2%); in the heart, severe inflammatory reaction at the ventricle (44.4%); in the liver, fat degeneration (47,2%); in the spleen, markedly congestion (55,6%); in the posterior kidney, scarce haematopoietic tissue (25%); in the pyloric ceca, severe necrosis of epithelium of mucosal (27,8%) and intestine with severe necrotic microvilli (44,4%). The frequency of infection by *Y. ruckeri* in symptomatic animals was 85,5% in fish farm C, 64,7% in B and 15,4% in fish farm

A. Factor influencing in the frequency of infection in symptomatic animals was rainy season.

We concluded that enteric redmouth disease is widely spread in fish farms in the central Peruvian Andes.

**Keywords:** Enteric redmouth disease, *Yersinia ruckeri*, histopathology, serotype, antibiotic sensitivity, rainbow trout.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Localización de las piscigranjas en la región central del Perú con sus respectivos ríos.

**Figura 2.** Variación de la temperatura del agua en las piscigranjas estudiadas, según los meses del muestreo.

**Figura 3.** Procesamiento de la muestra en el Laboratorio del Centro Piscícola “El Ingenio” - Huancayo, 2008.

**Figura 4.** Cultivo de *Yersinia ruckeri* en el medio Agar Trypticase Soya (TSA), mostrando colonias blanca-cremosas e iridiscentes al reflejo de la luz.

**Figura 5.** Sensibilidad antibiótica de una cepa de *Yersinia ruckeri* a los principales quimioterápicos de uso frecuente en acuicultura.

**Figura 6.** Antibiograma de una cepa de *Yersinia ruckeri* en Agar Muller Hinton, mostrando alta sensibilidad frente a otro grupo de antibióticos.

**Figura 7.** Ejemplar juvenil perteneciente a la piscigranja C, con signos presuntivos de una yersiniosis (ERM) como la exoftalmia bilateral y melanosis de la piel.

**Figura 8.** Espécimen procedente de la piscigranja B, que muestra el abdomen distendido.

**Figura 9.** Muestra de la piscigranja A, en la que se observa exoftalmia unilateral derecha.

**Figura 10.** Frecuencia de signos externos de la enfermedad entérica de la boca roja (ERM) detectadas en las piscigranjas de la región central del Perú, 2008.

**Figura 11.** Trucha de la piscigranja A, en la cual se muestra el intestino posterior congestionado.

**Figura 12.** Ejemplar perteneciente a la piscigranja C, en el que se aprecian los ciegos pilóricos congestionados.

**Figura 13.** Frecuencia de signos internos en la enfermedad entérica de la boca roja detectadas en las piscigranjas de la región central del Perú, 2008.

**Figura 14.** Frecuencia de lesiones histopatológicas en la piscigranja A.

**Figura 15.** Frecuencia de lesiones histopatológicas en la piscigranja B.

**Figura 16.** Frecuencia de lesiones histopatológicas en la piscigranja C.

**Figura 17.** Observación histopatológica del ventrículo cardiaco con marcada reacción inflamatoria a nivel del miocardio.

**Figura 18.** Tejido hepático: degeneración grasa de hepatocitos.

**Figura 19.** Necrosis de células centroacinares en el páncreas, obsérvese picnosis nuclear de dichas células.

**Figura 20.** Severa necrosis en los ciegos pilóricos.

## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1.** Serotipos de *Y. ruckeri* (Daly *et al.*, 1986; De Grandis *et al.*, 1988).

**Tabla 2.** Nuevo esquema de serotipificación y sus correspondientes serotipos anteriores (Romalde *et al.*, 1993).

**Tabla 3.** Temperatura del agua en las piscigranjas A, B y C durante los meses muestreados, 2008.

**Tabla 4.** Tamaño de muestra por piscigranja de acuerdo al estadio estudiado.

**Tabla 5.** Tabla de interpretación de antibiogramas según halos de inhibición (mm) indicados por NCCLS.

**Tabla 6.** Lugar y fecha de aislamiento de cepas de *Yersinia ruckeri* en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*.

**Tabla 7.** Características bioquímicas de cepas de *Yersinia ruckeri* aisladas de tres piscigranjas estudiadas de la sierra central del Perú, 2008.

**Tabla 8.** Pruebas serológicas y bioquímicas (API 20E) de las cepas de *Yersinia ruckeri*, 2008.

**Tabla 9.** Medidas de los halos de inhibición (mm) de los discos de sensibilidad antibiótica frente a las cepas de *Y. ruckeri*.

**Tabla 10.** Frecuencia de presentación de signos externos de la enfermedad entérica de la boca roja en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* en las tres piscigranjas estudiadas, 2008.

**Tabla 11.** Frecuencia de presentación de lesiones macroscópicas de la enfermedad entérica de la boca roja en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* en las tres piscigranjas estudiadas, 2008.

**Tabla 12.** Frecuencia de presentación de lesiones histopatológicas en las piscigranjas A, B y C.

**Tabla 13.** Niveles de manejo sanitario empleado en las piscigranjas estudiadas.

**Tabla 14.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos (FIAS) a *Y. ruckeri* en las piscigranjas estudiadas.

**Tabla 15.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos (FIAS) a *Y. ruckeri* por mes de muestreo.

**Tabla 16.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos (FIAS) a *Y. ruckeri* según la estación temporal.

**Tabla 17.** Distribución de las muestras en las piscigranjas según la estación temporal.

**Tabla 18.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* según el origen de las ovas.

**Tabla 19.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* de acuerdo al manejo sanitario empleado en las piscigranjas.

**Tabla 20.** Status de infección de la enfermedad entérica de la boca roja en relación a la temperatura del agua.

**Tabla 21.** Distribución de la temperatura del agua por piscigranja estudiada.

**Tabla 22.** Análisis estratificado de la frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* con respecto al origen de las ovas y mes de muestreo.

**Tabla 23.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos (FIAS) a *Y. ruckeri* según la procedencia de las ovas y estación temporal.

**Tabla 24.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* según la procedencia de las ovas y manejo sanitario empleado por las piscigranjas.

**Tabla 25.** Análisis estratificado de la frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* con respecto a los meses de muestreo y estación temporal.

**Tabla 26.** Análisis estratificado de la frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* con respecto al origen de las ovas y estación temporal.

**Tabla 27.** Análisis estratificado de la frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* con respecto al manejo sanitario de la piscigranja y estación temporal.

## I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es uno de los sectores de producción con mayor crecimiento y rápida expansión en la industria internacional. Según cifras de la FAO (2010a), la industria acuícola produce alrededor de 53 millones de toneladas de productos hidrobiológicos, comprendiendo peces, crustáceos, moluscos entre otros organismos, tanto de agua dulce como de mar. Estos valores han venido en aumento en el paso de los últimos diez años, y se espera que sigan incrementándose, volviendo a la acuicultura como uno de los sectores más prometedores e influyentes en el mercado mundial.

La truchicultura constituye una actividad importante, habiendo reportado 0,58 millones de toneladas en el año 2008, lo que equivale al 17,4% de la producción a nivel mundial (FAO, 2010b).

La producción mundial de salmón y trucha cultivados en el año 2008 se concentró principalmente en Noruega (44%) y Chile (34%). Otros productores importantes fueron Reino Unido (7%), Canadá (7%) e Islas Faroe (2%) (Centrum, 2006).

La exportación a nivel mundial generó alrededor de 1.906.000 toneladas anuales en el año 2008, siendo Noruega y Chile los dos países más importantes en este rubro con participaciones de 839 mil y 657 mil toneladas métricas, respectivamente (Asociación de la industria del salmón de Chile A.G, 2009).

La truchicultura en nuestro país es una actividad económicamente significativa que se inició en el año 1927 con el cultivo de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Si bien en 1970 se constituye la Estación Pesquera Estatal de Junín, su desarrollo comercialmente importante data de las dos últimas décadas (Cavero, 2007). La producción de esta especie se encuentra en auge y en el año 2010 se registraron 16,313 t, de las cuales se exportaron 885,39 t (PRODUCE, 2010a).

Actualmente abastece tanto al mercado nacional como de exportación (Cavero, 2007), siendo los principales países receptores: Canadá, Alemania, Noruega y Suecia (PRODUCE, 2010a).

La producción de trucha mayormente se concentra en los departamentos de Puno, Junín, Huancavelica, Pasco y Lima (PRODUCE, 2010b).

Una de las principales enfermedades bacterianas en la salmonicultura mundial es la Yersiniosis o Enfermedad Entérica de la Boca Roja EBR (en inglés, ERM = Enteric Redmouth Disease), responsable de serias pérdidas económicas (Austin & Austin, 2007).

Durante la década de los años 50, la ERM estuvo asociada con alta mortalidad en pisciculturas de trucha arco iris en el Valle de Hagerman, Idaho (USA) (Ross *et al.*, 1966). Esta entidad patológica se encuentra distribuida en poblaciones de peces de América del Norte, Europa, Australia (Furones *et al.*, 1993, Carson & Wilson, 2009), Sudáfrica (Bragg & Henton, 1986), Venezuela (Alvarez *et al.*, 1992), Chile (Bravo, 1993) y Perú (Bravo & Kojagura, 2004). No se han reportado aún brotes de esta patología en Japón (Yoshimizu, 2000).

La ERM es una importante infección sistémica de curso agudo a crónico que afecta primariamente a la trucha arco iris *O. mykiss*. Puede comprometer a otros salmónidos y algunas especies no salmónidos, siendo el causante la bacteria *Yersinia ruckeri*, bacilo corto, ligeramente curvo, gram negativo, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Dicho patógeno mide 0,75 µm de diámetro y 1-3 µm de largo, presenta 7-8 flagelos peritricos que le confieren la característica de motilidad, la cual está relacionada con la temperatura de incubación, siendo móviles aquellas cultivadas entre 18 a 27 °C (Tobback *et al.*, 2007).

En el año 1998, se reportó por primera vez en nuestro país la presencia de yersiniosis en truchas arco iris *O. mykiss* procedentes de piscigranjas de la sierra central (Bravo & Kojagura, 2004).



Actualmente el gobierno está apoyando la producción de truchas mediante el Programa de Sierra Exportadora. Es importante en nuestro país conocer los problemas sanitarios relacionados a enfermedades que afectan la producción de las mismas, ya que la información existente es escasa e incompleta en comparación con otros países vecinos. Son muy pocos los trabajos de investigación sobre esta patología en truchas; y es en este contexto que se realizó el presente estudio llevado a cabo durante los meses de febrero a octubre del año 2008 en dos piscigranjas ubicadas en la provincia de Concepción y una tercera en otra piscigranja localizada en la provincia de Jauja, ambas perteneciente a la Región Junín – Perú.

## II. ANTECEDENTES

A principios de 1950, la enfermedad entérica de la boca roja (ERM) fue reconocida por primera vez como un serio problema de salud para los peces del Valle de Hagerman, al sur de Idaho (USA) (Ross *et al.*, 1966). Rucker, en 1954 realizó el primer aislamiento de la bacteria causante de esta enfermedad en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* a partir de brotes epizooticos de ejemplares provenientes de una piscigranja de dicha región (Rucker, 1966).

El nombre de la enfermedad ha sido cambiado varias veces. Originalmente esta entidad patológica fue reconocida con el nombre de la enfermedad de la “boca roja” o del “vientre rojo” y “septicemia hemorrágica bacteriana”. Mc. Daniels (1971), propuso el nombre de la boca roja de Hagerman (HRM) (Dulin *et al.*, 1976).

En 1966, Ross *et al.* publicaron una descripción completa del agente causal y le asignaron el nombre de Red Mouth (RM) bacteria. En ese mismo año, Rucker enumeró los signos clínicos de la enfermedad, proporcionando información sobre la epizootiología, tratamiento y profilaxis de la misma (Rucker, 1966).

En 1985 se aisló por primera vez en Noruega la bacteria *Y. ruckeri* en cultivos de salmón del Atlántico (Sparboe *et al.*, 1986). En ese mismo año, en España se registró el primer aislamiento de cepas móviles de *Y. ruckeri* pertenecientes al serotipo I biotipo 1 (Davies & Frerichs, 1989), que ha ocasionado significativas pérdidas económicas (De la Cruz *et al.*, 1986).

En Suiza, se han registrado brotes de ERM en trucha *Salmo gairdneri* producidos por cepas del serotipo I (Meir, 1986).

En 1990 se aisló la cepa no móvil correspondiente al serotipo I biotipo 2 (Davies & Frerichs, 1989) en el Reino Unido y Noruega (Davies, 1990).

En 1991 se efectuó el primer aislamiento de *Y. ruckeri* en Turquía en una piscigranja de truchas en Denizli (Avci & Birincioglu, 2005).

En Chile se reportó en ese mismo año el primer brote de *Y. ruckeri* en cultivos comerciales de salmón del Atlántico *Salmo salar*, siendo la mayoría de los aislamientos cepas pertenecientes al serotipo I y de forma ocasional al serotipo II (Concha, 1998).

En Portugal se efectuó en 1993 el primer aislamiento de este patógeno correspondiente al serotipo I a partir de salmónidos cultivados, agua y sedimento del ambiente natural (Souza *et al.*, 1994).

En 1998 se realizó el primer aislamiento del patógeno en nuestro país, en el departamento de Junín, a partir de dos estudios, el primero en octubre de ese mismo año y el segundo durante los meses de febrero y marzo del 2002, obteniéndose como resultado del primer estudio la presencia de *Y. ruckeri* en 9 de los 17 criaderos inspeccionados, incluyendo una piscigranja con jaulas flotantes en un lago. En el segundo estudio se aisló esta bacteria en 25 de los 28 criaderos estudiados, incluyendo tres piscigranjas con jaulas flotantes localizadas en tres lagunas distintas (Bravo & Kojagura, 2004).

### III. GENERALIDADES

#### 3.1 TRUCHA ARCO IRIS

La trucha arco iris fue nombrada como *Salmo gairdneri* por Richardson en 1836, pero actualmente adopta la denominación inicial de *Oncorhynchus mykiss* propuesta por Walbaum en 1792 (Behnke, 1966).

Su ubicación taxonómica es la siguiente:

Phylum	:	Chordata
Sub phylum	:	Vertebrata
Clase	:	Actinopterygii
Orden	:	Salmoniformes
Familia	:	Salmonidae
Género	:	<i>Oncorhynchus</i>
Especie	:	<i>O. mykiss</i>

##### 3.1.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

La trucha arco iris es una especie íctica perteneciente a la familia de los salmónidos que se caracteriza por poseer el cuerpo de forma fusiforme y cubierto con finas escamas. La coloración de la piel varía de acuerdo al ambiente en que vive, edad y estado de madurez sexual. La denominación de trucha arco iris se debe a la presencia de una franja de colores de diferentes tonalidades, predominantemente rojiza, sobre la línea lateral en ambos lados del cuerpo (Mendoza & Palomino, 2004)

##### 3.1.2 IMPORTANCIA DEL CULTIVO EN EL PERÚ

La trucha arco iris (*O. mykiss*) fue introducida al Perú por los años de 1920, específicamente en el río Shinca, provincia de Yauli – La Oroya, proveniente de los Estados Unidos de Norteamérica por la Cerro de Pasco Corporation con fines deportivos.

La región Junín ubicada a 3273 m de altitud cuenta con recursos hídricos que reúnen características potenciales para el cultivo de truchas. El proceso de desarrollo se viene ejecutando desde la década de los 30 hasta la actualidad, cuyos volúmenes de producción se vienen incrementando en niveles significativos satisfaciendo la demanda del mercado local, regional, nacional e internacional (Bedriñana, 2009).

El cultivo de trucha en nuestro país se produce principalmente en estanques de concreto, así como en jaulas flotantes. Durante los últimos once años, esta actividad ha registrado un importante crecimiento. En el año 2000 se cosecharon 1.928 t y en el siguiente (2001) se produjeron 2.586 t. En los siguientes dos años el crecimiento fue mayor, registrándose en el 2002 y 2003 la cantidad de 2.981 y 3.111 t de cosecha respectivamente. Los años subsiguientes, el ascenso en la producción fue cada vez mayor; así, durante los años 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010 se obtuvieron producciones de 4.699; 5.475; 5.794; 6.997; 12.497; 12.817 y 16.313 t, respectivamente (PRODUCE, 2011).

### **3.2 *Yersinia ruckeri***

La bacteria *Yersinia ruckeri* es un bacilo corto, ligeramente curvo, Gram negativo, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Mide aproximadamente 0,75 µm de diámetro y 1-3 µm de largo, presenta entre 7-8 flagelos peritricos que le confieren la característica de una bacteria con motilidad, la cual está relacionada generalmente con la temperatura de incubación entre 18 a 27 °C (Tobback *et al.*, 2007).

Existen seis serotipos distintos de *Y. ruckeri*, que se identifican mediante reacciones serológicas (Tabla 1).

**Tabla 1.** Serotipos de *Y. ruckeri* (Daly *et al.*, 1986; De Grandis *et al.*, 1988).

Serotipo	Nombre
I	Hagerman
II	O'Leary
III	Australiano o "Salmonid blood spot bacteria"
IV*	Ontario
V	Colorado
VI	Ontario

\* No corresponde al género *Yersinia* por hibridación de DNA.

De Grandis *et al.* (1988) por hibridación de ADN demostraron que las cepas incluidas como serotipo IV no pertenecen al género *Yersinia*.

La cepa australiana previamente descrita como serotipo III fue incorrectamente serotificada, ya que mostró reacción cruzada con el antisuero del serotipo I, siendo ambas similares y pertenecientes al serotipo O1 (Davies, 1990).

Romalde *et al.*, (1993) propusieron un nuevo esquema de serotipificación (Tabla 2), para lo cual tomaron en consideración la hipótesis de De Grandis *et al.* (1988) distinguiendo cuatro serotipos: serotipo O1 se divide en dos subgrupos, O1 a (anteriormente llamado serotipo I) y el subgrupo O1 b (serotipo III). El serotipo O2 (serotipo II) se divide en tres subgrupos: O2 a, O2 b y O2 c. Los demás serotipos fueron designados como O3 (serotipo V) y O4 (serotipo VI).

**Tabla 2.** Nuevo esquema de serotipificación y sus correspondientes serotipos anteriores (Romalde *et al.*, 1993).

Nuevos serotipos	Subgrupo	Serotipos anteriores
O1	a	I
	b	III
O2	a	II
	b	II
	c	II
O3	NA *	V

\* NA: No aplicable

En términos de patogenicidad en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, el serotipo I es el más virulento seguido por el serotipo II y el tipo III (Bullock *et al.*, 1983).

### 3.3 EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD ENTÉRICA DE LA BOCA ROJA

#### 3.3.1 HOSPEDADORES

La enfermedad entérica de la boca roja es más prevalente en trucha arco iris (Roberts, 1983; Bragg & Henton, 1986); sin embargo, Austin & Austin (2007) reportaron brotes en poblaciones de otros salmónidos como *Salmo trutta* (trucha marrón), *Salvelinus fontinalis* (salvelino o trucha fontana), *Oncorhynchus tshawytscha* (salmón real) y *O. kisutch* (salmón coho). También se ha registrado esta enfermedad en *Salmo clarki* (trucha de garganta cortada), *O. nerka* (salmón rojo) y *Salmo salar* (salmón del Atlántico) (Dulin *et al.*, 1976); así como en otras especies de peces no salmónidos, tales como *Ictalurus punctatus* (bagre de canal) (Danley *et al.*, 1999), *Acipenser baerii* (esturión) (Vuillaume *et al.*, 1987), *Notropis atherinoides* (sardina esmeralda), *Pimephales promelas* (carpita cabezona) (Austin & Austin, 2007), *Coregonus* sp. (coregono o pez blanco), *Carassius auratus* (goldfish) (Mc Ardle & Dooley, 1985), *Coregonus artedii* (arenque de lago) (Bullock & Anderson, 1984), *Perca fluviatilis* (perca) (Valtonen *et al.*, 1992), *Cyprinus carpio* (carpa) y *Anguilla anguilla* L (anguila) (Bragg & Henton, 1986, Valtonen *et al.*, 1992). Bullock & Cipriano (1990) describieron la infección producida por esta enfermedad en muchas especies marinas, entre las cuales figuran *Scophthalmus maximus* (rodaballo), *Dicentrarchus labrax* (lubina) y *Sparus auratus* (dorada).

#### 3.3.2 FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA APARICIÓN DE LA ENFERMEDAD

Los brotes de esta enfermedad están asociados con condiciones ambientales pobres y factores desencadenantes de estrés, tales como alta temperatura y

deficiente calidad del agua, bajos niveles de oxígeno, elevada densidad poblacional (Meir, 1986), manipulación y transporte de especímenes (Austin & Austin, 2007).

Existen otros factores que influyen en la propagación de esta entidad patológica, tales como la alta concentración de bacterias eliminadas al medio por animales infectados y largo periodo de supervivencia de las mismas en el medio acuático (mayor a tres meses) ya sea en agua dulce, marina y sedimento. En este último, la persistencia bacteriana en comparación con el agua sería mayor, ya que está influenciada por la temperatura y salinidad del medio (Romalde *et al.*, 1993). Se ha observado que el patógeno sobrevive hasta por cuatro meses en agua con 0-2,0% de salinidad, pero reduce su nivel de supervivencia en agua de mar (salinidad 3,5%) (Thorsen *et al.*, 1992). Otros estudios señalan que su subsistencia en agua dulce (río) es favorecida por las bajas temperaturas (6 °C) (Romalde *et al.*, 1994a).

Se reconoce que *Y. ruckeri* como muchas otras especies bacterianas en ambientes acuáticos, forman biopelículas en material sólido, adhiriéndose a las superficies de los estanques por poseer pili. Estas biopelículas pueden ser una fuente de infección recurrente en granjas de truchas por largos periodos de tiempo y tienen la capacidad de sobrevivir en medios hostiles (Coquet *et al.*, 2002). Estas características explican la dispersión y/o aparición de este patógeno en amplios lugares del ecosistema acuático, inclusive en lugares donde no han ocurrido casos previos de brotes de ERM (Bullock *et al.*, 1978; Valtonen *et al.*, 1992), así como la aparición de *Yersinia* a varios kilómetros de distancia de una piscigranja infectada. Estos hechos explicarían que la bacteria puede ser una especie nativa encontrada bajo condiciones naturales que infecta las instalaciones de acuicultura a través de la entrada de agua, o las cepas pueden aparecer en peces infectados de las granjas y son liberadas al río a través de la salida del agua (Romalde *et al.*, 1994b).

### **3.3.3 OCURRENCIA DE BROTES**

La mayoría de brotes de ERM ocurren en rangos de temperatura del agua de 11–18 °C, mientras que el estado crónico de la enfermedad se relaciona con



temperaturas frías de 8–10 °C, interpretándose que hay una correlación entre la aparición de *Yersinia* y la temperatura (Post, 1987).

Las truchas más susceptibles a esta enfermedad y con elevados niveles de mortalidad son los alevines de 8-12 cm de longitud, así como los peces del estadio juvenil que pesan un promedio de 30 g (Meir, 1986; Bravo & Kojagura, 2004).

La mortalidad de truchas causada por esta enfermedad es variable, pudiendo ocasionar pérdidas de 0,1 - 0,5% por día y menos de 0,5 a más de 5% por semana (Meir, 1986). En trucha arco iris, la pérdida acumulativa debida a esta entidad patológica se puede estimar en 30 - 35% de la población en cada brote de la enfermedad (Austin & Austin, 2007).

#### **3.3.4 PERIODO DE INCUBACIÓN**

En condiciones experimentales el tiempo de incubación de la enfermedad es de 5 a 10 días a temperatura de 13 - 15 °C. En brotes naturales, el periodo de incubación es indudablemente afectado por factores ambientales tales como temperatura, pH y oxígeno disuelto (Bullock & Cipriano, 1990).

#### **3.3.5 TRANSMISIÓN**

Esta entidad patológica se difunde de forma horizontal de pez a pez a través del agua, es decir que los peces sanos son expuestos a bacterias que han sido eliminadas en heces por peces enfermos o portadores asintomáticos. La infección a través de estos últimos ocurre generalmente bajo condiciones de estrés, habiéndose observado experimentalmente que estos peces transmiten la bacteria *Y. ruckeri* a peces clínicamente sanos cuando la temperatura del agua es mayor a 25 °C (Hunter *et al.*, 1980).

La transmisión vertical no ha sido demostrada y probablemente no ocurra (Bullock & Cipriano, 1990). Sin embargo, Sauter *et al.*, (1985) aislaron *Y. ruckeri* de la superficie de ovas desinfectadas y no fertilizadas de salmón real *O.*

*tshawytscha*, cuya progenie tuvo niveles de baja mortalidad desde la fertilización hasta las doce semanas de edad, lo cual sugiere que la enfermedad puede ser transmitida verticalmente.

Las aves, peces, crustáceos silvestres y mamíferos como la rata almizclera *Ondatra zibethicus* (Austin & Austin, 2007), pueden actuar como vectores potenciales de esta enfermedad, transmitiendo el agente infeccioso a truchas y salmones cultivados en agua dulce o salada (Willumsen, 1989). Las aves adquieren la bacteria *Y. ruckeri* al capturar y alimentarse de peces infectados de jaulas y de estanques de cultivo a la intemperie, sin ninguna protección. Posteriormente las aves defecan en jaulas o en agua circundante, siendo posible que áreas no infectadas comiencen a contaminarse con bacterias que se encuentran en esas heces (Willumsen, 1989).

### 3.4 PATOGÉNESIS

A pesar de la importancia de ERM, poco se conoce acerca del mecanismo patogénico por el cual la bacteria *Y. ruckeri* es capaz de vencer las defensas del hospedero y causar la enfermedad (Tobback *et al.*, 2007).

Las branquias, piel e intestino han sido identificados como rutas importantes de infección para otros patógenos de peces. Todos estos tejidos se encuentran cubiertos por una capa de mucus, la cual es considerada como la primera barrera física que cruza el patógeno para iniciar la infección. Dicho mucus cumple un rol importante en la defensa del hospedero, ya que posee actividad antibacteriana, pero el grado de actividad parece variar entre especies (Svendsen & Bogwald, 1997). Sin embargo, algunos patógenos se adhieren eficientemente a componentes del moco como la mucina y glicoconjugados, penetrando a través de la capa mucosa y alcanzando el epitelio subyacente (Chen *et al.*, 2008)

La bacteria *Y. ruckeri* posee toxinas extracelulares, como la proteasa Yrp1 que degrada estructuras extracelulares y membrana basal, causando alteración de la misma y provocando la erosión de vasos capilares y por ende microhemorragias

en ciertas áreas como boca e intestino. Asimismo posee la hemolisina YhIA, capaz de lisar los eritrocitos (Fernández *et al.*, 2003).

Este patógeno tiene mayor tropismo por las branquias e intestino, lo cual probablemente está relacionado a la fácil accesibilidad al sistema capilar superficial (Fernández *et al.*, 2003).

### **3.5 SIGNOS DE LA ENFERMEDAD**

La enfermedad entérica de la boca roja puede comprometer a peces de todas las edades, afectando en la fase aguda a peces pequeños hasta la talla de alevines. En el estadio adulto la enfermedad aparece generalmente como una condición crónica (Tobback *et al.*, 2007).

En los peces enfermos se pueden observar cambios en el comportamiento, tales como nado en la superficie del agua, en áreas de poca corriente, letargia (Dulin *et al.*, 1976; Bravo & Kojagura, 2004; Tobback *et al.*, 2007) y anorexia (Dulin *et al.*, 1976; Tobback *et al.*, 2007).

Si el pez sobrevive, busca protegerse o apartarse de los otros peces (Bullock & Cipriano, 1990).

#### **3.5.1 SIGNOS EXTERNOS**

Los peces presentan hemorragias subcutáneas que se manifiestan como enrojecimiento alrededor de la boca y/o cavidad oral (Rucker, 1966; Dulin *et al.*, 1976), istmo (Dulin *et al.*, 1976; Bullock & Cipriano, 1990), región de la cabeza (Tobback *et al.*, 2007), base de las aletas (Dulin *et al.*, 1976), a lo largo de la línea lateral (Tobback *et al.*, 2007; Avci & Birincioglu, 2005) y en la piel del abdomen (Dulin *et al.*, 1976) y coloración oscura de la piel (Bravo & Kojagura, 2004). Los dos primeros fueron considerados como signos patognomónicos y dieron origen al nombre de la enfermedad entérica de la boca roja (Carson & Wilson, 2009).

Con frecuencia se observa exoftalmia unilateral o bilateral (Dulin *et al.*, 1976)

que comúnmente aparece acompañada de hemorragia alrededor de la cavidad ocular (Bravo & Kojagura, 2004) e iris (Bullock & Cipriano, 1990), característica por la cual recibió la denominación de mancha de sangre en salmónidos (Carson & Wilson, 2009). Otro aspecto patológico muy frecuente es la distensión abdominal por la acumulación del líquido ascítico (Bullock & Cipriano, 1990; Avci & Birincioglu, 2005) y presencia de fluido sanguinolento exudando del ano prolapsado (Alvarez *et al.*, 1992).

### **3.5.2 SIGNOS INTERNOS**

Puede haber hemorragias petequiales en la superficie del hígado, páncreas, ciegos pilóricos, intestino, vejiga natatoria, tejido adiposo perivisceral y en los músculos esqueléticos laterales (Avci & Birincioglu, 2005). Las gónadas pueden encontrarse hemorrágicas y el bazo hipertrófico, friable y de color oscuro. El intestino posterior se aprecia inflamado y lleno de un fluido espeso de color amarillento (Rucker, 1966; Sparboe *et al.*, 1986; Avci & Birincioglu, 2005), siendo estos los principales signos internos más frecuentes (Bravo & Kojagura, 2004).

Experimentalmente se ha reproducido la enfermedad, observándose la presencia de las fases aguda y crónica. En esta última se observa enrojecimiento de la boca del pez, aunque con relativa baja frecuencia, ya que parece manifestarse en los últimos estadios de esta fase (Troncoso *et al.*, 1994).

### **3.6 DIAGNÓSTICO Y DETECCIÓN**

La enfermedad entérica de la boca roja exhibe signos clínicos similares a muchas otras bacteriemias agudas, tales como las causadas por las bacterias *Aeromonas liquefaciens* y *A. salmonicida*. Por lo tanto, el diagnóstico presuntivo de esta enfermedad no se puede basar sólo en el hallazgo de signos clínicos, sino que debe ir acompañado del aislamiento de *Yersinia ruckeri* a partir de las áreas afectadas principalmente los órganos internos como bazo, riñón e hígado (Dulin *et al.*, 1976).

El cultivo de la bacteria se puede realizar en agar tripticasa de soya (TSA) con incubaciones de 20 – 25 °C durante 48 horas (Austin & Austin, 2007), siendo la temperatura óptima de crecimiento entre 22 y 25 °C (Furones *et al.*, 1993; Bullock & Cipriano, 1990) en donde las colonias crecen normalmente con un diámetro de 1 a 2 mm, redondas, lisas, ligeramente convexas y con bordes completos. Estas colonias no presentan fluorescencia bajo la luz ultravioleta pero pueden aparecer ligeramente iridiscentes al reflejo de la luz. Al ser observadas bajo la luz natural, se presentan translúcidas con un color blanco cremoso. El olor producido durante el crecimiento en este medio es distintivo y único entre los patógenos bacterianos de los peces (Bullock & Cipriano, 1990). La bacteria *Y. ruckeri* también crece en otros medios tales como Agar Mac Conkey, agar sangre o en el medio de Mueller-Hinton. Algunos prefieren el medio diferencial de Waltman & Shotts (Waltman & Shotts, 1984).

Para la caracterización bioquímica de este agente se utilizan métodos convencionales y nuevas herramientas diagnósticas como el sistema API-20E. Se discute que a través de este sistema se obtienen reacciones falsas negativas y positivas. Las reacciones falsas negativas se relacionan con las pruebas de Voges-Proskauer, citrato y gelatina; por otra parte, las reacciones falsas positivas se presentan con lisina descarboxilasa, fermentación de sorbitol e inositol. Romalde & Toranzo (1991) sostienen que para *Y. ruckeri*, el sistema API 20E no tiene todos los códigos en su base de datos y que en muchos casos esto lleva a confusiones e interpretar los resultados como otros microorganismos, especialmente la enterobacteria *Hafnia alvei*.

Bioquímicamente *Y. ruckeri* se describe como un grupo homogéneo en sus características, siendo una bacteria con metabolismo fermentativo, positiva a pruebas como rojo de metilo, citrato (Ewing *et al.*, 1978; De la Cruz *et al.*, 1986), descarboxilación de lisina y ornitina, degradación de gelatina y tween 80, reducción de nitratos a nitritos, producción de ácidos a partir de maltosa, manitol, trehalosa, glucosa, lactosa, sacarosa, inositol, arabinosa, sorbitol, salicina, rhamnosa, xilosa y glicerol. Sin embargo, resulta negativa a otras pruebas como citocromo oxidasa, Voges-Prokauer, desaminación de la fenilalanina, degradación de esculina, ausencia de gas a partir de glucosa, fluorescencia, producción de

indol, producción de hidrógeno sulfurado y formación de ácido a partir de melobiosa. Todas estas características son descritas por diversos autores como Ewing *et al.*, (1978); Daly *et al.*, (1986); Davies & Frerichs (1989); Furones *et al.*, (1993); Austin & Austin (2007) entre otros. Por otro lado, se han reportado resultados variables en algunas pruebas como rojo-metilo, Voges-Proskauer, lisina descarboxilasa (Inglis *et al.*, 2001), motilidad a 25 °C, licuefacción de la gelatina, fermentación del sorbitol y arabinosa (Stevenson & Daly, 1982).

La confirmación diagnóstica se realiza a través del uso de antisueros específicos en pruebas de aglutinación en placa, ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) y test de anticuerpos fluorescentes, los cuales permiten distinguir varios tipos de *Y. ruckeri*, unos más patógenos que otros (Daly *et al.*, 1986). Asimismo, actualmente se utilizan técnicas moleculares, entre las más comúnmente usadas se encuentran las pruebas RFLP (Restriction fragment length polymorphism) y PCR (Polymerase chain reaction). Estos métodos tienen la ventaja de detectar bajos niveles de *Y. ruckeri* en las muestras e identificar portadores asintomáticos, lo cual es importante para prevenir la transmisión y diseminación de ERM (Tobback *et al.*, 2007).

### **3.7 SENSIBILIDAD ANTIBIOTICA**

Las cepas de *Y. ruckeri* pueden mostrar sensibilidad antibiótica ante diversos compuestos como ácido nalidíxico (30 µg), ampicilina (100 µg), carbenicilina (100 µg), cloranfenicol (34 µg), estreptomicina (10 µg), gentamicina (10 µg), kanamicina (30 µg), neomicina (30 µg) (Troncoso *et al.*, 1994), tetraciclina (30 µg), trimetoprim/ sulfametazol (1,25/23,75 µg) (Troncoso *et al.*, 1994; Souza *et al.*, 1994), oxitetraciclina, ácido oxolínico y enrofloxacin (Souza *et al.*, 1994). Asimismo, pueden ofrecer resistencia a penicilina (10 UI), eritromicina (15 µg) (Troncoso *et al.*, 1994) y estreptomicina (Souza *et al.*, 1994).

Otros estudios señalan alta sensibilidad (100%) frente a nuevos quimioterápicos utilizados en acuicultura como florfenicol, flumequina, oxitetraciclina y sulfametoxazol y en menor proporción (72,3%) frente a ácido oxolínico (Concha, 1998).

El uso asociado de trimetoprim con quinolonas como ácido oxolínico y nalidíxico indicaría una interacción sinérgica positiva frente a cepas de *Y. ruckeri* (Inglis *et al.*, 1995). Sin embargo, otros reportes señalan sensibilidad variada frente a trimetoprim (5 µg), flumequina (30 µg) y oxitetraciclina (30 µg) y resistencia ante ácido oxolínico (2 µg) (Karatas *et al.*, 2004).

### **3.8 TRATAMIENTO**

Varios antibióticos son incorporados en el alimento y han sido usados como quimioterapéuticos para la ERM, entre ellos figuran el ácido oxolínico (Rodgers & Austin, 1982), sulfameracina, oxitetraciclina (Rucker, 1966; Ceschia *et al.*, 1987), sulfonamidas potenciadas (Bullock *et al.*, 1983), tiamulina (Bosse & Post, 1983), eritromicina y quinolonas. Todas ellas han sido utilizadas con frecuencia para controlar epizootias de esta enfermedad (Ceschia *et al.*, 1987). Actualmente el uso de antibióticos se encuentra restringido por la alta resistencia bacteriana que genera su aplicación y por el alto costo que significa su adquisición (Rodgers & Austin, 1982; Fortt, 2007). Los errores comúnmente detectados, que predisponen a la aparición de cepas resistentes, se refieren a aspectos como los tratamientos no avalados por pruebas de sensibilidad, bajas dosis, interrupción o disminución del tiempo mínimo recomendado, errores de cálculo, uso reiterado de un solo antibiótico y otros (Concha, 1998). Sin embargo, actualmente se cuestiona el uso de antibióticos en el tratamiento de animales cultivados, debido al impacto que generan dichos tratamientos sobre el ambiente acuático (Michel *et al.*, 2003).

### **3.9 HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS**

El descubridor de la bacteria Rucker (1966), describió los primeros cuadros histopatológicos que presenta la enfermedad de la boca roja; estos incluyen la presencia de macrófagos fagocitando bacterias y gran cantidad de linfocitos en numerosos tejidos, especialmente en el riñón.

Wobeser (1973) observó la destrucción necrótica del tejido hematopoyético en el bazo y sinusoides del riñón con disminución del número y tamaño de células pigmentadas, edema y vacuolización de células reticuloendoteliales, pérdida total

de la estructura normal de los folículos linfoides dentro del bazo con congestión de los capilares sinusoides esplénicos y presencia de células retículo endoteliales hipertróficas.

También se describió vacuolización de los hepatocitos (Petrie *et al.*, 1996; Karatas *et al.*, 2004), edema de las células retículo endoteliales de los sinusoides hepáticos con núcleos vesiculares y acumulación marcada de células mononucleares en áreas periportales de este órgano (Wobeser, 1973).

### **3.9.1 FASE AGUDA**

Casi todos los tejidos de truchas infectadas muestran una aguda bacteriemia con concomitante respuesta inflamatoria. La colonización bacteriana ocurre en los capilares de tejidos muy vascularizados, especialmente en las áreas con hemorragias petequiales. Estos capilares se hallan dilatados y congestionados. Se presenta congestión y edema en tejido branquial, cardíaco, hepático, esplénico y renal (Frerichs *et al.*, 1985; Bullock & Cipriano, 1990).

En las células epiteliales de las lamelas branquiales se observa hiperemia, hemorragia y descamación (Avci & Birincioglu, 2005). Además se hace evidente el colapso circulatorio en este tejido, por la presencia de edema y aparente anemia, mostrando estasis sanguínea y agrupación bacteriana (Frerichs *et al.*, 1985).

En el tejido renal se aprecia disminución significativa del número de células linfoides y proliferación de células mononucleares (Avci & Birincioglu, 2005).

El tracto digestivo desarrolla hemorragias en porciones externas y el revestimiento de la mucosa se vuelve edematoso y necrótico, produciéndose desprendimiento del mismo hacia el lumen (Bullock & Cipriano, 1990 y Karatas *et al.*, 2004).

En el bazo e hígado puede presentarse necrosis focal (Avci & Birincioglu, 2005) con marcada acumulación de células mononucleares en áreas periportales en este último (Bullock & Cipriano, 1990).



### 3.9.2 FASE CRÓNICA

Se aprecia hiperplasia de células interlamelares del filamento branquial, hígado con presencia de vacuolas de grasa en el citoplasma de los hepatocitos y desaparición de capilares sinusoides. También existe infiltración de células mononucleares alrededor de la vena central y conductos biliares (Avci & Birincioglu, 2005).

En el riñón generalmente no se observan lesiones en los glomérulos y túbulos renales; sin embargo, existe proliferación de células mononucleares en tejido hematopoyético renal (Avci & Birincioglu, 2005).

### 3.10 CONTROL

El control de la enfermedad entérica de la boca roja puede llevarse a cabo mediante técnicas de inmunización, las cuales pueden ser por vía oral (a través de los alimentos), parenteral (inyección) (Anderson & Nelson, 1974) e inmersión o aspersión (Austin & Austin, 2007). Se han registrado problemas con el método oral, ya que su periodo de protección es de corta duración (6 semanas) comparado con el método inyectable (12 semanas) (Austin & Austin, 2007). La menor duración del método oral se debe a que durante la digestión, los antígenos sufren una degradación por enzimas digestivas del estómago, de tal manera que cuando alcanzan el intestino, la cantidad sería insuficiente para desencadenar la respuesta inmune o se encontraría alterado (Ellis, 1988; Toranzo *et al.*, 2009).

Asimismo métodos comparativos de control por inyección, inmersión y baños por aspersión, señalan que el primero ofrece la mejor protección contra *Y. ruckeri* (Austin & Austin, 2007). Sin embargo, se señala que no es un método práctico para inmunizar gran número de alevines, siendo factible su uso en peces grandes (Tobback *et al.*, 2007).

Se han realizado ensayos con vacunas contra ERM administradas por baños, obteniéndose resultados muy alentadores, ya que se puede reducir significativamente el porcentaje de mortalidad por esta enfermedad (Austin &

Austin, 2007). Desafortunadamente, las vacunaciones no dan un 100% de protección y el uso de antibióticos aún es requerido en ciertas circunstancias (Rodgers, 1991).

Actualmente las vacunas comerciales son producidas sólo con cepas de Hagerman que pertenecen al serotipo O1 a. Sin embargo, se ha demostrado que no todas las variantes antigénicas de *Y. ruckeri* pueden ser protegidas de manera cruzada por este serotipo (Toranzo, 2009).

Las técnicas de manejo cumplen un rol muy importante en el control de enfermedades, ya que eliminan los reservorios de bacterias y por ende reducen la ocurrencia de epizootias (Romalde *et al.*, 1994a).

El agua constituye un vehículo que favorece la transmisión de microorganismos, ya que los peces con infección crónica son portadores que diseminan el patógeno en dicho elemento, por lo cual resulta preponderante la descontaminación de efluentes para limitar la propagación de las bacterias patógenas de peces (Romalde *et al.*, 1994a).

Otros aspectos que favorecen la propagación del patógeno es el estrés causado por una inadecuada manipulación, la nutrición inapropiada, condiciones ambientales adversas, entre otras (Busch, 1973).

A fin de evitar la transferencia del patógeno de un estanque a otro, algunos investigadores consideran importante desinfectar los materiales utilizados en la manipulación de peces con sustancias que contengan yodo (Ross & Smith, 1972).

## **IV. OBJETIVOS**

### **4.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el estado situacional del patógeno *Yersinia ruckeri*, causante de la enfermedad entérica de la boca roja (ERM) en *Oncorhynchus mykiss* (trucha arco iris), en tres piscigranjas de la sierra central del Perú.

### **4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 4.2.1 Aislar y caracterizar fenotípica y serológicamente al agente causal de la ERM conducentes a la identificación del patógeno en las piscigranjas estudiadas.
- 4.2.2 Evaluar el comportamiento de las cepas de *Y. ruckeri* frente a los antibióticos comúnmente utilizados en acuicultura mediante pruebas de antibiograma.
- 4.2.3 Analizar las lesiones provocadas por *Y. ruckeri* en especímenes afectados, utilizando técnicas histológicas orientadas a caracterizar los signos patobiológicos más frecuentes de la ERM.
- 4.2.4 Determinar la Frecuencia de Infección de animales sintomáticos (FIAS) por *Y. ruckeri* causante de la ERM mediante análisis estadístico en las piscigranjas estudiadas.
- 4.2.5 Identificar los factores medio ambientales que favorecen la patogénesis de la ERM a fin de sugerir en el futuro la aplicación de medidas correctivas en el manejo acuícola.

## V. MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1 LUGARES DE MUESTREO: Piscigranjas de la región central del Perú.

- **Piscigranja A:** La fuente de agua que abastece a esta piscigranja es el río Chiapuquio (Figura 1) y con temperatura promedio de 11,6 °C y pH de 7 (Tabla 3). Sus instalaciones cuentan con 4 salas de incubación y 107 estanques de concreto, de los cuales 36 corresponden para el desarrollo de la fase de alevinaje, encontrándose en ambiente techado y los demás pertenecen al plantel de reproductores, fase juvenil y adultos. Los estanques exteriores de concreto (26 x 5 m) para juveniles poseen una capacidad de 9,5 Kg/m<sup>3</sup>. Anualmente producen un promedio de 157 toneladas métricas.
- **Piscigranja B:** Es alimentada por el río Rangra, siendo la temperatura promedio del agua de 10,5 °C y pH 7. Se encuentra dotada de una ecloserie con 10 artesas y de 20 estanques exteriores de concreto (30 x 3 m) para juveniles y adultos. Los estanques para juveniles cuentan con una capacidad de 20 Kg /m<sup>3</sup>. La producción anual es de 33 toneladas.
- **Piscigranja C:** Es provista de agua por el río Los Molinos, cuya temperatura promedio registrada es de 11,6 °C y pH 7. Esta piscigranja cuenta con sala de ecloserie con 10 artesas y 21 estanques exteriores de concreto (11 x 3 m) para juveniles y adultos con una capacidad de 60 Kg/estanque. La producción promedio anual es de 22 toneladas.

### 5.2 MUESTREO DE CAMPO

La colecta de las muestras se realizó durante los meses de febrero, marzo, mayo, junio, julio, agosto, setiembre y octubre del año 2008. Durante dicho periodo se efectuó el muestreo de 154 especímenes procedentes de las siguientes piscigranjas: A (65), B (34) y C (55) (Tabla 4).

La cantidad de muestras analizadas estuvo supeditada a la disponibilidad de las mismas en la piscigranja evaluada.

Para realizar la colecta se eligieron los peces que presentaron aparentes signos de enfermedad (melanosis de la piel, erosión de las aletas, natación errática a la salida del estanque, entre otros).

Al momento de la colecta se tomaron datos ambientales del agua como temperatura (Figura 2) y pH, asimismo se consideraron otros aspectos ambientales, tales como la estación (lluviosa o seca).

El transporte de los especímenes se efectuó en bolsas de plástico con agua, insufladas con aire con la finalidad de que los peces lleguen vivos al laboratorio.

### **5.3 MUESTRAS BIOLÓGICAS**

Los peces muestreados de la piscigranja A fueron provenientes de su propio plantel de reproductores, mientras que los ejemplares de las piscigranjas B y C son de ovas importadas de la empresa Trout Lodge (USA).

Los especímenes analizados de las piscigranjas A y C correspondieron a los estadios de alevín, juvenil y adultos. En la piscigranja B sólo se analizaron juveniles y adultos cuyas tallas y pesos se aprecian en la Tabla 4.

### **5.4 PROCESAMIENTO EN EL LABORATORIO**

La toma de muestras y el procesamiento de órganos tanto para el análisis bacteriológico como para el estudio histopatológico (ver anexo), se llevó a cabo inicialmente de forma paralela en el Laboratorio del Centro Piscícola “El Ingenio” - Huancayo (Figura 3). El procesamiento posterior y análisis de las mismas se efectuó en el Laboratorio de Patobiología Acuática de la Dirección General de Investigaciones en Acuicultura, perteneciente a la Sede Central del Instituto del Mar del Perú (IMARPE), ubicada en la provincia Constitucional del Callao.

## **5.5 MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS**

Las truchas fueron sacrificadas por punción medular retrocraneal (Ferguson, 1989). Posteriormente se efectuó un cuidadoso examen externo de piel y branquias de cada ejemplar y se procedió a anotar los signos observados en un registro clínico o formulario anamnésico (ver anexo).

### **5.5.1 PROCESAMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO**

#### **5.5.1.1 AISLAMIENTO**

Se procedió a realizar la apertura de la cavidad visceral de forma aséptica y posteriormente se efectuó un examen macroscópico de los órganos internos (estómago, hígado, bazo, riñón e intestino). Subsecuentemente, se llevó a cabo la siembra a partir de un “pool de órganos” (riñón anterior y bazo) por cada dos peces de una misma piscigranja, en placas de agar tripticasa de soya (TSA) (Woodland, 2006).

En el laboratorio de Patobiología Acuática del IMARPE se incubaron las placas a una temperatura de 20 °C durante 24 a 48 horas. Una vez que crecieron las colonias, se procedió a aislar las mismas y cultivar en un cepario en tubos conteniendo el medio TSA e incubando a 20 °C por 24 horas.

#### **5.5.1.2 CARACTERIZACIÓN DE COLONIAS E IDENTIFICACIÓN PRESUNTIVA**

A partir de ceparios se efectuaron pruebas microbiológicas de identificación primaria, tales como Gram, prueba de motilidad y citocromo oxidasa (Woodland, 2006).

#### **5.5.1.3 PRUEBAS BIOQUÍMICAS CONVENCIONALES DE IDENTIFICACIÓN**

Para la caracterización bioquímica de la bacteria, se realizaron 16 pruebas en tubos:

- Oxidación – fermentación de glucosa.

- Motilidad en medio semisólido.
- Producción de indol (medio SIM).
- Producción de hidrógeno sulfurado (medio SIM).
- Prueba de Rojo de Metilo (MR).
- Prueba de Voges-Proskauer (VP).
- Prueba de descarboxilación y desaminación de lisina.
- Degradación de gelatina.
- Producción de ácido a partir de:
  - Lactosa.
  - Sacarosa.
  - Arabinosa.
  - Manitol.
  - Melobiosa.
  - Rhamnosa.
  - Sorbitol.
  - Xilosa.

La interpretación de estas pruebas se efectuó después de 24 horas de su siembra.

#### **5.5.1.4 IDENTIFICACIÓN MEDIANTE EL SISTEMA API 20E**

Se realizó la caracterización bioquímica utilizando el sistema comercial miniaturizado API 20E para enterobacterias como nueva herramienta diagnóstica, realizándose el procedimiento según las indicaciones del fabricante.

#### **5.5.2 PRUEBAS SEROLÓGICAS**

Las cepas aisladas e identificadas como *Y. ruckeri* mediante pruebas bioquímicas convencionales fueron enviadas al Departamento de Microbiología y Parasitología del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad de Santiago de Compostela, España, para su identificación serológica confirmativa mediante la técnica de aglutinación (Toranzo *et al.*, 1987) y ensayo de Dot-Blot (Bolinches *et al.*, 1990). Se utilizaron antisueros de las siguientes cepas referenciales:

- 11.4 (serotipo O1a)
- 1533 (serotipo O1b)
- RS2 (serotipo O2a)
- 11.29 (serotipo O2b)
- RS6 (serotipo O2c)
- 11.47 (serotipo O3)
- NCMB 2194 (cepa tipo)
- NCMB 1316 (National Collection of Marine and Industrial Bacteria Ltd., USA).

### **5.5.3 SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA**

Cada cepa fue procesada según el método de difusión en agar, utilizando la técnica de Kirby-Bauer según lo recomendado por National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2005), con la finalidad de evaluar la respuesta frente a los antibióticos. La suspensión bacteriana se preparó en una solución de suero fisiológico estéril (NaCl 0,85%) y con una torunda de algodón hidrófilo estéril se sembró la placa de agar Müller Hinton en 2 a 3 direcciones, distribuyéndose homogéneamente sobre la superficie de la misma, posteriormente se aplicaron los sensidiscos con los antibióticos (concentración conocida) incubándose por 24 horas a 28 °C. Dicho procedimiento se efectuó por duplicado.

Para determinar los halos de inhibición de cada antibiótico sobre las cepas de *Yersinia ruckeri*, se procedió realizando tres mediciones, de manera que el resultado final fue un promedio de dichos valores y se comparó con los halos de inhibición estándares descritos en la National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2005) (Tabla 5).

### **5.5.4 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS HISTOLÓGICAS**

Se tomaron muestras de las lesiones externas y de los siguientes órganos: branquias, corazón, hígado, bazo, riñón anterior y posterior, ciegos pilóricos e intestino posterior. De estos órganos se extrajeron muestras de 1 cm de superficie



y 4 mm de espesor, para luego ser fijadas en solución de formaldehído al 10% (v/v) en buffer fosfato pH 7,0 y ser procesados utilizando la metodología propuesta por Luna (1960).

Las muestras fueron incluidas en parafina líquida con la finalidad de obtener bloques. Una vez que estos solidificaron se realizaron cortes del tejido con micrótopo a 5  $\mu$ m de espesor y se tiñeron con Hematoxilina y Eosina de Harris (Luna, 1960) para su posterior observación microscópica e identificación de las lesiones histopatológicas (microscopio Nikon, modelo Eclipse 90i).

## **5.6 MANEJO SANITARIO DE LAS PISCIGRANJAS**

Durante la colecta de las muestras se efectuó la observación directa de las condiciones físicas del agua (clara o turbia, contenido de partículas en suspensión), tipo de agua utilizada (primer o segundo uso), desinfección de red, remoción de animales moribundos o muertos y limpieza de estanques en cada piscigranja. Los datos fueron tabulados para su análisis posterior, asignándoseles a cada piscigranja la calificación de óptimo, intermedio y deficiente.

## **5.7 ESTACIÓN TEMPORAL**

Se tomó en consideración la estación del año, presentándose la época de lluvias en la sierra durante los meses de noviembre a marzo, periodo en el cual aumenta la cantidad de sedimento en el agua y la estación seca durante los meses de abril a octubre.

## **5.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se utilizó el programa estadístico SPSS 15.0, y el error  $\alpha$  se estableció en 0,05 que corresponde a un nivel de confianza del 95%.

Se comparó la probabilidad de infección de los animales sintomáticos (FIAS) mediante la prueba Chi-cuadrado de Pearson. Cuando esta prueba no fue aplicable se utilizó la prueba exacta de Fisher o la prueba Likelihood Ratio.

La comparación de promedios para la variable temperatura fue realizada con la prueba de t de Student para muestras independientes. Se efectuó el Análisis de Varianza (ANOVA) cuando la distribución fue normal y las prueba U de Mann-Whitney o prueba de Kruskal-Wallis cuando la distribución no fue normal. La normalidad se evaluó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

### 5.8.1 FRECUENCIA DE INFECCIÓN DE ANIMALES SINTOMÁTICOS (FIAS)

Es la probabilidad de que un animal sintomático esté infectado por *Y. ruckeri*.

Para calcular la frecuencia de infección de animales sintomáticos se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{FIAS} = \frac{\text{Nº de animales infectados}}{\text{Nº de animales sintomáticos}} \times 100$$

Hipótesis:

$H_0: \tau_i = 0$  La probabilidad de que un pez sintomático esté infectado por *Y. ruckeri* es independiente de las distintas variables analizadas.

$H_1: \tau_i \neq 0$  La probabilidad de que un pez sintomático esté infectado por *Y. ruckeri* depende de alguna de las variables analizadas.

## **VI. RESULTADOS**

### **6.1 AISLAMIENTO DE LA BACTERIA *Yersinia ruckeri*.**

A partir de las muestras de órganos internos analizados se logró aislar un total de 30 cepas bacterianas presuntivas de *Yersinia ruckeri* (Tabla 6). Estas cepas en el medio TSA presentaron colonias con características propias de Gram negativas cuya morfología más resaltante fue la observación de colonias de un color blanco cremoso con ligera iridiscencia al reflejo de la luz (Figura 4).

Al realizar la observación microscópica de las bacterias aisladas, se apreciaron bastones cortos de 0,89 - 2  $\mu\text{m}$  de largo y 0,45 – 0,57  $\mu\text{m}$  de diámetro y al efectuar las pruebas presuntivas se observó que el 100% de las cepas aisladas fueron bacterias Gram negativas, citocromo oxidasa negativas, fermentadoras de glucosa y presentaron motilidad, correspondiendo la tipificación bacteriológica a la familia Enterobacteriaceae y dentro de ella tentativamente a *Yersinia*.

### **6.2 CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LA BACTERIA**

En cuanto a las características bioquímicas de las cepas analizadas mediante técnicas convencionales, éstas evidenciaron metabolismo fermentativo de la glucosa, además fueron positivas a las siguientes pruebas: Voges-Proskauer, citrato, degradación de gelatina, producción de ácido a partir de arabinosa, manitol, melobiosa, rhamnosa, sorbitol y xilosa. Asimismo, la mayoría de las bacterias mostraron positividad ante la prueba de rojo de metilo, a excepción de las cepas 4 y 14. Por otra parte la totalidad de las cepas fueron ratificadas como negativas a citocromo oxidasa, producción de indol, hidrógeno sulfurado y lisina descarboxilasa (Tabla 7).

### **6.3 CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS CON API 20E**

Mediante esta prueba las cepas aisladas se identificaron correctamente como *Yersinia ruckeri*, determinándose los perfiles numéricos 5104100 para 17

aislados, 5105100 para otros 11 y 5107100 para 2 cepas (compatibles para *Hafnia alvei* al 93,3%) (Tabla 8). Las diferencias bioquímicas observadas se dieron en las pruebas de Voges-Proskauer e hidrólisis de gelatina.

## **6.4 PRUEBAS SEROLÓGICAS**

Las cepas analizadas mediante las pruebas de aglutinación y Dot Blot correspondieron al serotipo O1 subgrupo a (Tabla 8), según el esquema de serotipado propuesto por Romalde y col., (1993) (Tabla 2).

## **6.5 SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA**

Los antimicrobianos comúnmente utilizados en sanidad acuícola mostraron acción inhibitoria eficaz contra todas las cepas aisladas de *Yersinia ruckeri*, siendo sensibles el 100% a ácido oxolínico, ampicilina, flumequina, gentamicina (Figura 5), furazolidona, estreptomicina, sulfatrimetoprim (Figura 6), ácido nalidíxico, florfenicol y oxitetraciclina. Los antibióticos que presentaron mayor tamaño de los halos de inhibición frente a las cepas analizadas fueron sulfatrimetoprim (48,3 mm) y florfenicol (40,6 mm) (Tabla 9)

## **6.6 ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO**

### **6.6.1 SIGNOS PATOLÓGICOS**

En los ejemplares analizados de las piscigranjas A, B y C se observaron con mayor frecuencia los siguientes signos externos: exoftalmia bilateral (31%) (Figura 7), melanosis de la piel (20%), abdomen distendido (17%) (Figura 8), exoftalmia unilateral (14%) (Figura 9) y hemorragias petequiales en la piel del abdomen (9,7%) (Figura 10) (Tabla 10). Entre los signos internos, se encontró: congestión a nivel de la serosa del intestino posterior (35%) (Figura 11), ciegos pilóricos congestionados (32,5%) (Figura 12) e hígado pálido (16,2%) (Tabla 11) (Figura 13).

## 6.6.2 LESIONES HISTOPATOLÓGICAS

Se analizaron 36 muestras de peces de las piscigranjas A, B y C (Tabla 12) durante los meses de febrero, marzo y mayo del año 2008. Las lesiones histopatológicas detectadas en todos los casos son similares. En las piscigranjas A y B fue notorio observar lesiones en las branquias con presencia de edema a nivel de las lamelas secundarias (Figura 14 y 15), cuyas frecuencias de presentación fueron de 50% y 61,5% respectivamente. En la piscigranja C esta característica patológica fue de menor frecuencia (35,3%) (Figura 16).

Respecto a los órganos internos, en el corazón se observó severa reacción inflamatoria con predominio de células mononucleares a nivel del miocardio en las piscigranjas B (38,5%) y C (58,8%) (Figura 17).

En el hígado los hallazgos histopatológicos más frecuentes fueron degeneración grasa en las piscigranjas B y C con 53,8% y 47,1%, respectivamente (Figura 18). En el caso de la piscigranja A se presentó la menor frecuencia (33,3%). Asimismo, en los capilares sinusoidales se apreció necrosis en las piscigranjas A (100%) y B (69,2%). La menor frecuencia de esta entidad patológica se presentó en la piscigranja C (47,1%).

En el bazo se encontró congestión marcada en los capilares sinusoidales esplénicos en muestras de las piscigranjas B (46,2%) y C (70,6%); sin embargo, se observó en menor frecuencia en la piscigranja A (33,3%).

El efecto patológico sobre el riñón posterior en general fue poco apreciable, observándose depleción de tejido hematopoyético en la piscigranja A (33,3%). En las piscigranjas B y C esta patología se observó con menor frecuencia (23,1 y 23,5%), respectivamente.

En el tejido pancreático se halló severa necrosis de los acinos en las piscigranjas A (33,3%) y C (58,8%) (Figura 19).

En ciegos pilóricos se observó severa necrosis en la piscigranja C (52,9%) y

en menor frecuencia en las muestras de la piscigranja A (16,7%) (Figura 20). No se registró ningún caso de esta lesión en la piscigranja B.

En intestino se observaron las vellosidades severamente necrosadas en las piscigranjas A (50%) y C (58,8%). En la piscigranja B esta entidad patológica reportó la menor frecuencia (23,1%).

## **6.7 MANEJO SANITARIO DE LAS PISCIGRANJAS**

En las instalaciones de cada piscigranja estudiada se observó el siguiente manejo sanitario:

### **Sala de incubación**

Las tres piscigranjas estudiadas utilizaban agua de primer uso procedente del río que las alimenta, cuya característica fue clara para las piscigranjas A y B y turbia con presencia de sedimento para la C (Tabla 13). La piscigranja A contaba con pediluvio en el ingreso de la sala de incubación a diferencia de las piscigranjas B y C. En cuanto a la limpieza y desinfección previa de las artesas antes de efectuar la desinfección de ovas se observó que las piscigranjas A y B, sí efectuaban este procedimiento, a excepción de la C. Todas realizaban la desinfección de ovas.

### **Estanques de juveniles y adultos**

El tipo de agua que empleaban las piscigranjas A y C fue de primer y segundo uso. En la piscigranja B utilizaban agua de primer uso.

Las piscigranjas A y B efectuaban la desinfección de red después de concluir la faena en cada estanque, remoción diaria de animales moribundos o muertos y limpieza interdiaria de estanques. La piscigranja C no realizaba las labores antes mencionadas.

En las tres piscigranjas estudiadas no se controlaba la calidad del agua mediante la medición de parámetros físico – químicos, tales como pH y amonio, sólo se tomaba temperatura de la misma. Asimismo no se realizaba el análisis microbiológico de agua y sedimento.

Solamente los operarios de las piscigranjas A y B recibían capacitación continua en cuanto al manejo sanitario de la piscigranja.

Con respecto al nivel de manejo de las piscigranjas A y B, les corresponde la calificación de intermedio y óptimo, respectivamente. En el caso de la piscigranja C la calificación fue considerada como deficiente.

## **6.8 ANÁLISIS GLOBAL SOBRE LA FRECUENCIA DE INFECCIÓN DE ANIMALES SINTOMÁTICOS**

La frecuencia de infección en animales sintomáticos (FIAS) se efectuó mediante la prueba de Chi-cuadrado de Pearson, determinándose una frecuencia total de 51,3%, apreciándose diferencias significativas ( $p<0,001$ ), siendo la piscigranja A la que presentó menor frecuencia (15,4%) (Tabla 14).

En cuanto a la FIAS asociada al mes de colecta de la muestra, no se observaron diferencias significativas ( $p=0,150$ ) (Tabla 15).

### **6.8.1 FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA FRECUENCIA DE INFECCIÓN DE ANIMALES SINTOMÁTICOS**

Para determinar los factores que influyeron sobre la frecuencia de infección de animales sintomáticos se realizó la prueba de Chi-cuadrado de Pearson.

#### **6.8.1.1 ESTACIÓN TEMPORAL Y FIAS**

No se observó diferencia significativa en la FIAS según la estación temporal ( $p=0,052$ ). Sin embargo, se apreció una mayor tendencia de la FIAS en la estación lluviosa (Tabla 16).

En la Tabla 17 se observa que la distribución de las muestras en las piscigranjas no fue significativamente diferente en relación con la estación ( $p=0,107$ ) por lo que no es de esperarse un impacto reseñable del efecto cluster con respecto a esta variable climática.

#### **6.8.1.2 PROCEDENCIA DE OVAS Y FIAS**

El origen de las ovas presentó una significativa asociación con la FIAS ( $p<0,001$ ), de forma que el aislamiento de *Yersinia ruckeri* fue menor en peces procedentes de ovas nacionales (15,4%) (Tabla 18) con respecto a los peces procedentes de ovas importadas.

#### **6.8.1.3 MANEJO SANITARIO Y FIAS**

El manejo sanitario también estuvo asociado con la FIAS, pero en este caso la interpretación es confusa, y puede deberse al efecto cluster, ya que la explotación con origen de ovas nacionales realizaba un manejo sanitario intermedio, por lo que no es atribuible una mayor FIAS al manejo sanitario (Tabla 19).

#### **6.8.1.4 STATUS DE INFECCIÓN Y TEMPERATURA DEL AGUA**

La distribución de las temperaturas del agua según el estatus de infección mostró una distribución no normal según la prueba de Kolmogorov-Smirnov para los animales infectados ( $p=0,013$ ), por lo que se aplicó una prueba no paramétrica para comparación de medias. Desde el punto de vista estadístico, se observó que los animales positivos a la enfermedad se encontraron en estanques con una temperatura significativamente menor, pero la diferencia fue mínima ( $p = 0,025$ ) por lo que no tiene una significación práctica (Tabla 20).

En la Tabla 21 se aprecia la distribución de las temperaturas del agua por piscigranja según el estatus de infección, mostrando una distribución no normal según la prueba de Kolmogorov-Smirnov para las piscigranjas B ( $p_B=0,016$ ) y C ( $p_C<0,001$ ), por lo que se efectuó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para



comparación de medias. Observándose que las temperaturas eran significativamente diferentes según la piscigranja.

## **6.9 ANÁLISIS ESTRATIFICADO**

Debido a la existencia de asociaciones estadísticas entre las distintas variables utilizadas para explicar el estatus de infección, se procedió a realizar un análisis estratificado. Fundamentalmente en función del origen de las ovas y de la estación temporal.

### **6.9.1 ANÁLISIS ESTRATIFICADO POR ORIGEN DE LAS OVAS**

Aplicando la prueba de Likelihood Ratio, se observaron diferencias significativas según el mes de muestreo en los animales procedentes de ovas importadas ( $p=0,001$ ), con una menor FIAS en los meses de agosto, mayo y junio. Sin embargo no hay diferencias significativas en animales procedentes de ovas nacionales ( $p=0,235$ ) (Tabla 22).

Utilizando la prueba exacta de Fisher, se confirma lo observado en la Tabla 22, presentándose una mayor FIAS en la estación lluviosa en animales procedentes de ovas importadas (Tabla 23).

En la Tabla 24, se compara mediante la prueba exacta de Fisher el manejo sanitario en el caso de ovas importadas, debido al efecto cluster anteriormente mencionado, siendo la FIAS menor cuando el manejo sanitario es óptimo.

### **6.9.2 ANÁLISIS ESTRATIFICADO POR ESTACIÓN**

En este caso no se aprecian diferencias significativas entre los meses dentro de sus respectivas estaciones (Tabla 25).

Independientemente de la estación temporal (seca o lluviosa), la FIAS fue significativamente mayor entre los peces procedentes de ovas importadas (Tabla 26).

El manejo sanitario también estuvo significativamente asociado con la FIAS independientemente de la estación, pero los resultados son paradójicos debido al efecto cluster que asocia el manejo sanitario con el origen de las ovas (Tabla 27)

## VII. DISCUSIÓN

En cuanto a los resultados sobre las características bioquímicas de *Y. ruckeri* mediante métodos convencionales expuestas en la Tabla 8, guardan semejanza con lo reportado por diversos autores (Ewing *et al.*, 1978; De la Cruz *et al.*, 1986; Daly *et al.*, 1986; Davies & Frerichs, 1989; Furones *et al.*, 1993; Austin & Austin, 2007). En relación a la prueba de descarboxilación de lisina, esta fue negativa para la totalidad de cepas analizadas, sin embargo puede existir variabilidad de la misma según lo descrito por Inglis *et al.* (2001).

En este estudio la mayoría de bacterias fueron positivas para las pruebas de Rojo de Metilo y Voges-Proskauer; sin embargo, existen variaciones en dos de las cepas analizadas (MR- / VP+), lo cual coincide con lo reportado por Davies & Frerichs (1989).

El sistema miniaturizado API-20E, diseñado para el estudio de enterobacterias en general, se utilizó en el presente estudio para la caracterización bioquímica de *Y. ruckeri*. Los resultados obtenidos en este trabajo fueron concordantes con lo mencionado por Romalde & Toranzo (1991); quienes afirman que este sistema puede dar reacciones falsas negativas especialmente con los resultados de las pruebas de Voges-Proskauer y gelatina. Asimismo, estos autores sostienen que el mismo no cuenta con todas las codificaciones para la bacteria *Y. ruckeri*; tal es así, que en el caso del presente trabajo se obtuvo la codificación 5107100 en 2 de las 30 cepas analizadas, llevando a interpretar estos resultados como posibles cepas de la enterobacteria *Hafnia alvei*.

Otras investigaciones indican que cepas de *Y. ruckeri* no fermentadoras de sorbitol están relacionadas con su virulencia para peces (Bullock *et al.*, 1978) y aquellas que lo fermentan generalmente son avirulentas. El serotipo I de *Y. ruckeri* es sorbitol negativo y ha sido causa de grandes epizootias de la ERM, aunque han ocurrido también con cepas sorbitol positivas, concluyéndose finalmente que estas últimas son potencialmente virulentas (Furones *et al.*, 1993).

Las cepas de *Y. ruckeri* aisladas en el presente estudio pertenecen al serotipo

O1, siendo el mismo tipo referido por Bravo & Kojagura (2004) y Davies & Frerichs (1989) y al subgrupo a (Romalde *et al.*, 1993). Un hecho importante de destacar de la Tabla 7, es la positividad de las cepas serotipo O1 a la fermentación de sorbitol, lo cual coincide con lo descrito por Davies & Frerichs (1989) y Stevenson & Airdrie (1984), quienes sugieren la positividad de la misma de forma ocasional e incluso por otros serotipos, tales como III y V. Sin embargo, algunos autores (O' Leary *et al.*, 1979) afirman la positividad de esta prueba como una característica propia del serotipo II.

En cuanto a la sensibilidad antibiótica del patógeno, las cepas bacterianas evaluadas obtuvieron buenos niveles de sensibilidad frente a los antibióticos utilizados en acuicultura, lo cual probablemente se deba a que el uso de antimicrobianos para el tratamiento de la enfermedad entérica de la boca roja en las piscigranjas muestreadas está restringido, salvo el uso ocasional de oxitetraciclina. Investigaciones realizadas al respecto señalan que el uso continuo de antimicrobianos desarrolla alta resistencia bacteriana (Rodgers & Austin, 1982; Fortt, 2007).

Según estudios realizados por Troncoso *et al.* (1994) y Souza *et al.* (1994), las cepas de *Y. ruckeri* analizadas fueron sensibles a ampicilina, ácido oxolínico, ácido nalidíxico, gentamicina y oxitetraciclina, lo cual coincide con lo encontrado en el presente estudio; sin embargo, difiere con lo reportado por Karatas *et al.* (2004), cuyas cepas aisladas mostraron resistencia ante ácido oxolínico.

Desde el punto de vista anatomopatológico, los signos externos frecuentemente observados en los peces con enfermedad entérica de la boca roja, fueron exoftalmia, base de aletas enrojecida, distensión abdominal y hemorragias petequiales en la piel del abdomen, los cuales son similares a lo reportado por Dulin *et al.* (1976); Bravo & Kojagura (2004) y Avci & Birincioglu (2005).

El signo de la boca roja se presentó en este trabajo en 2,8% de las muestras analizadas, lo cual coincide con lo obtenido en el estudio de Alvarez *et al.* (1992) y

Troncoso *et al.* (1994), quienes afirman haber observado dicho signo con relativa baja frecuencia en los últimos estadios de la fase crónica de la enfermedad.

En cuanto a los signos internos comúnmente apreciados, los peces presentaron ciegos pilóricos e intestino posterior congestionados, concordando con lo referido por Rucker (1966); Sparboe *et al.* (1986); Bravo & Kojagura (2004) y Avci & Birincioglu (2005). Entre los signos menos frecuentes se apreció el hígado y tejido perivisceral con hemorragias petequiales, guardando semejanza con lo descrito por Avci & Birincioglu (2005). Asimismo, se observó esplenomegalia, ascitis y presencia de fluido mucoso amarillento en el intestino, siendo éstos dos últimos signos muy frecuentes según lo reportado por Rucker (1966); Sparboe *et al.* (1986); Bullock & Cipriano (1990) y Avci & Birincioglu (2005), lo cual difiere con lo encontrado en el presente estudio en que fueron infrecuentes.

En general, las lesiones histopatológicas se presentaron de manera similar en todas las etapas productivas. Así, los resultados mostrados en la Tabla 12 referentes a la frecuencia de lesiones histopatológicas, se señala que las piscigranjas A, B y C reflejaron lesiones que pueden estar asociadas con la presencia de la bacteria *Y. ruckeri*, apreciándose edema y congestión a nivel de las lamelas branquiales secundarias, lo cual coincide con lo referido por Rucker (1966); Frerichs *et al.* (1985) y Bullock & Cipriano (1990). Otras lesiones observadas fueron hemorragia lamelar, guardando semejanza con lo reportado por Avci & Birincioglu (2005) e hiperplasia apical del filamento. Al respecto este último hallazgo histopatológico no concuerda con lo registrado por otros autores, constituyendo una alteración asociada con deficiencia de ácido pantoténico en la dieta como lo señala Roberts (1983).

A nivel de tejido cardíaco se apreció edema y reacción inflamatoria. Asimismo desprendimiento del endotelio en el endocardio, lo cual guarda similitud con lo descrito por Rucker (1966); Frerichs *et al.* (1985) y Bullock & Cipriano (1990).

La existencia de vacuolas o degeneración grasa en los hepatocitos coincide con lo reportado por Wobeser (1973); Petrie *et al.* (1996); Karatas *et al.* (2004);

Avci & Birincioglu (2005), así como la presencia de necrosis focal y ausencia de capilares sinusoides, lo cual concuerda con lo referido por Avci & Birincioglu (2005).

En el bazo se observó congestión de capilares sinusoides esplénicos y necrosis de tejido hematopoyético. Este cuadro fue descrito por Wobeser (1973) en patologías observadas en un brote epizootico de la ERM en truchas arco iris.

En el riñón posterior se apreció escaso tejido hematopoyético, lo cual coincide con lo reportado por Avci & Birincioglu (2005); así como edema alrededor de los túbulos renales según lo registrado por Rucker (1966); Frerichs *et al.* (1985) y Bullock & Cipriano (1990).

En los ciegos pilóricos e intestino se halló necrosis del epitelio de la mucosa y desprendimiento del mismo hacia el lumen, lo cual es similar a lo reportado por Bullock & Cipriano (1990) y Karatas *et al.* (2004).

A nivel de tejido pancreático se observó severa necrosis en los acinos, la cual no necesariamente puede ser consecuencia de una alteración por *Y. ruckeri*. Esta lesión podría asociarse con la Infección Pancreática Necrótica (IPN) producida por un virus perteneciente a la familia Birnaviridae tal como fue descrito por Roberts (1983).

En relación al manejo sanitario en las instalaciones de la sala de incubación se observó que el agua de abastecimiento provenía del río (Tabla 13), la cual probablemente estaba contaminada por efluentes domésticos, insecticidas procedentes de la agricultura, relaves mineros o patógenos del ambiente silvestre, siendo lo recomendable según Bedriñana (2009) emplear agua de manantial procedente del subsuelo.

La piscigranja A poseía pediluvio en la entrada de la sala de incubación y de esta manera se podría evitar la introducción de agentes patógenos por el personal y/o visitante. Sin embargo, las piscigranjas B y C no contaban con pediluvio pudiendo favorecer la contaminación mecánica (Bedriñana, 2009).

En cuanto a la frecuencia de infección de animales sintomáticos (FIAS) por *Y. ruckeri*, se observó la menor FIAS en la piscigranja A, ya que se encuentran asociadas otras etiologías, tal como la presencia del hongo *Ichthyophonus hofferi*, siendo menor la frecuencia de yersiniosis en los animales sintomáticos (Tabla 14).

En relación a los resultados expuestos en la Tabla 24, sobre la frecuencia de infección de animales sintomáticos según la procedencia de las ovas y manejo sanitario empleado por la piscigranja correspondiente, se comparó el manejo para el caso de peces procedentes de ovas importadas debido al efecto cluster de dicha variable común para las piscigranjas B y C. Apreciándose que la mayor FIAS se presentó en la piscigranja C, lo cual probablemente se deba al deficiente manejo efectuado (mezcla de la fuente de agua con el efluente del estanque anterior), pudiéndose considerar como un riesgo potencial de contaminación y diseminación de la enfermedad de un estanque a otro. Esto puede explicarse, ya que el agua es un vehículo para transportar a los patógenos a grandes distancias, hecho que fue evaluado por Romalde *et al.* (1994b), quienes determinan que la bacteria *Yersinia ruckeri* fue transportada por el agua a varios kilómetros de distancia de la piscigranja infectada. Asimismo, la utilización de la misma red para capturar los peces de todos los estanques sin haber efectuado una previa desinfección, favorece la transferencia de la bacteria a estanques que estuvieron libres de patógenos (Mc Daniel, 1971). La permanencia de peces moribundos y muertos en los estanques contribuye a la diseminación de patógenos en los animales aparentemente sanos. La falta de limpieza de los estanques puede favorecer la formación de biopelículas en material sólido por parte de la bacteria, siendo una fuente de infección recurrente en la piscigranja por extensos períodos de tiempo (Coquet *et al.*, 2002). Todas las deficiencias anteriormente observadas, probablemente se presentan, ya que en dicha piscigranja no capacitaban a sus operarios en temas de manejo sanitario.

En la piscigranja B se observó una menor FIAS con respecto a la piscigranja C, muy probablemente porque realizaban un manejo sanitario óptimo, utilizando agua de primer uso, efectuaban la desinfección de las redes para capturar a los peces, recogían los animales muertos y limpiaban los estanques. Asimismo capacitaban a su personal de forma continua.

Cabe destacar que las dos piscigranjas anteriormente mencionadas (B y C), no realizaban la medición de parámetros físico – químicos y análisis microbiológico del agua, los cuales podrían constituir factores desencadenantes de estrés y por ende favorecer la ocurrencia de la enfermedad según lo reportado por Meir (1986).

Con respecto a la Tabla 16 sobre el análisis global de la FIAS según la estación temporal, cabe destacar que existe una mayor tendencia de ésta en época de lluvias. Sin embargo en los distintos análisis estratificados (Tabla 23 y 26) se apreció una FIAS significativamente mayor en esta época para el caso de peces procedentes de ovas importadas, ya que en estación lluviosa incrementa la cantidad de sedimento en el agua, concordando con lo descrito por Ross *et al.* (1966); Mc Daniel (1971) y Busch (1973), quienes manifiestan que al someter a los animales bajo condiciones ambientales adversas, favorecen la presentación de estrés en los mismos.



## VIII. CONCLUSIONES

1. La enfermedad entérica de la boca roja (ERM) se encuentra diseminada en las tres piscigranjas estudiadas.
2. Las cepas de *Yersinia ruckeri* aisladas pertenecen al serotipo O1 subgrupo a.
3. Los antimicrobianos utilizados en el presente trabajo mantienen niveles óptimos de actividad antibiótica *in Vitro* contra todas las cepas de *Y. ruckeri* aisladas, siendo más susceptibles frente a los antibióticos sulfatrimetoprim y florfenicol.
4. La patología de la ERM corresponde a un cuadro eminentemente septicémico, que afecta principalmente a los órganos internos, siendo las lesiones más frecuentemente encontradas a nivel de lamelas branquiales, corazón, tejido hepático, bazo, ciegos pilóricos e intestino.
5. La estacionalidad es considerada como el único factor relevante en la frecuencia de infección de animales sintomáticos, ya que durante la estación lluviosa fue más frecuente aislar *Y. ruckeri* en los mismos.
6. Existen evidencias en dos de las piscigranjas estudiadas que el manejo sanitario influye sobre la frecuencia de infección de animales sintomáticos.

## **IX. RECOMENDACIONES**

1. Ejecutar trabajos orientados a determinar el significado biológico “in vivo” que incluya estudios de virulencia con los serotipos de *Yersinia ruckeri* aislados.
2. Desarrollar protocolos de preparación de vacunas contra estos serotipos para su aplicación, como una importante alternativa en la prevención de esta enfermedad, especialmente durante la fase de alevinaje.
3. Realizar programas de monitoreo para el diagnóstico de la ERM en piscigranjas de otras regiones; así como aplicar medidas correctivas en el tratamiento y prevención, evitando en lo posible la aplicación de antimicrobianos que puedan resultar contraproducentes para el ecosistema acuático.
4. Implementar un laboratorio de diagnóstico de enfermedades en peces, especialmente en la región de la sierra central, por ser uno de los lugares de mayor producción de truchas.
5. Debido a la complejidad de la erradicación de la enfermedad (ya que el patógeno puede permanecer viable tanto en el agua como en sedimento por extensos periodos de tiempo y soportar medios hostiles), se recomienda prevenir la propagación de la misma mediante una rigurosa aplicación de buenas prácticas de manejo en las piscigranjas.
6. Destinar los efluentes de cada piscigranja para la actividad agrícola, ya que la eliminación directa al río produce contaminación del ambiente natural con patógenos.

## **X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Alvarez, J. D; Austin, B; Conroy, D. A. 1992. First outbreak of enteric redmouth of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* cultured in Venezuela. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 12 (6): 198-190.

Anderson, D. P; Nelson, J. E. 1974. Comparison of protection in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) inoculated with and fed Hagerman redmouth bacterins. J. Fish. Res. Board. Can. 31: 214-216.

Asociación de la industria del salmón de Chile A.G. 2009. (en línea). Producción mundial de salmón y trucha cultivado. < [www.salmonchile.cl](http://www.salmonchile.cl)>. Acceso: 18/12/2009.

Austin, B; Austin, D. A. 2007. Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish. 4th ed. Praxis. Chichester, United Kingdom. 552 pp.

Avci, H; Birincioglu, S. 2005. Pathological findings in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) experimentally infected with *Yersinia ruckeri*. J. Vet. Anim. Sci. 29: 1321-1328.

Bedriñana, S. M. 2009. Manual de producción de truchas. 1 era ed. Gobierno Regional Junín. 90 pp.

Behnke, R. J. 1966. Relationships of the Far Eastern Trout, *Salmo mykiss* Walbaum Copeia. 1966 (2): 346–348.

Bolinches, J; Lemos, M. L; Fouz, B; Cambra, M; Larsen, J. L; Toranzo, A. E. 1990. Serological relationships among *Vibrio anguillarum* strains. J. Aquat. Anim. Health. 1: 12-20.

Bosse, M. P; Post, G. 1983. Tribissen and tiamulin for control of enteric redmouth disease. J. Fish Dis. 6: 27-32.

Bragg, R. R; Henton M. M. 1986. Isolation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout in South Africa. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 6 (1): 5-6.

Bravo, S. 1993. Disease reported in pen reared salmonids from Chile AFS/FHS Newsletter. 21 (3): 3.

Bravo, S; Kojagura, V. 2004. First isolation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Peru. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 24 (2): 104-108.

Bullock, G. L; Stuckey H. M; Shotts, E. B. 1978. Enteric redmouth bacterium: comparison of isolates from different geographic areas. J. Fish Dis. 1: 351-356.

Bullock, G. L; Maestrone, G; Starliper, C; Schill, B. 1983. Potentiated sulfonamide therapy of enteric redmouth disease. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 40: 101-102.

Bullock, G. L; Anderson, D. P. 1984. Immunization against *Yersinia ruckeri*, cause of enteric redmouth disease. 151-166. in: P. de Kinkelin, ed. Symposium on fish vaccination. Office International des Epizooties, Paris, France.

Bullock, G. L; Cipriano, R. C. 1990. Enteric redmouth disease of salmonids. Fish Disease Leaflet 82. United States Department of the interior. 1-4.

Busch, R. A. 1973. The serological surveillance of salmonid populations for the presumptive evidence of specific disease association. University of Idaho, Ph. D. Diss.

Carson, J; Wilson, T. 2009. Yersiniosis in fish. Australia and New Zealand standard diagnostic procedures. 1-12.

[http://www.scahls.org.au/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0010/1516519/Yersiniosis.pdf](http://www.scahls.org.au/__data/assets/pdf_file/0010/1516519/Yersiniosis.pdf).

Acceso: 18/02/08

Cavero, P. 2007. (en línea). Perú es uno de los países mega diversos del mundo. Aqua Noticias al día.

<<http://www.aqua.cl/entrevistas>>. Acceso: 20/03/08.

Centrum al día. 2006. (en línea). Boletín electrónico de negocios. Mercado de la trucha.

<[http://www.centrum.pucp.edu.pe/centrumaldia/05092006/centrumaldia\\_05092006.html](http://www.centrum.pucp.edu.pe/centrumaldia/05092006/centrumaldia_05092006.html)>. Acceso: 20/10/09.

Ceschia, G; Giorgetti, G; Bertoldini, G. 1987. The in vitro sensitivity of *Y. ruckeri* to specific antibiotics. J. Fish Dis. 10: 65-67.

Chen, Q; Yan, Q; Wang, K; Zhuang, Z; Wang, X. 2008. Portal of entry for pathogenic *Vibrio alginolyticus* into large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*, and characteristics of bacterial adhesion to mucus. Dis. Aquat. Org. 80: 81-188.

Concha, A. F. 1998. Caracterización bioquímica, electroforética y sensibilidad antibiótica de cepas de *Yersinia ruckeri* aisladas desde Salmón del Atlántico (*Salmo salar*). [Tesis grado]. Fac. Med. Vet: Univ. Austral Chile.

Coquet, L; Cossette, P; Junter, G; Quillet, L; Jouenne, T. 2002. Occurrence and phenotypic characterization of *Yersinia ruckeri* strains with biofilm forming capacity in a rainbow trout farm. Appl. Environ. Microbiol. 68 (2): 470-475.

Daly, J; Lindvik, B; Stevenson, W. 1986. Serological heterogeneity of recent isolates of *Yersinia ruckeri* from Ontario and British Columbia. Dis. Aquat. Org. 1:151-153.

Danley, M. L; Goodwin, A. E; Killian, H. S. 1999. Epizootics in farm-raised channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), caused by the enteric redmouth bacterium *Yersinia ruckeri*. J. Fish Dis. 22: 451-456.

Davies, R. L; Frerichs, G. N. 1989. Morphological and biochemical differences among isolates of *Yersinia ruckeri* obtained from wide geographical areas. J. Fish Dis. 12 (4): 357-365.

Davies, R. L. 1990. O-serotyping of *Yersinia ruckeri* with special emphasis on European isolates. Vet. Microbiol. 22: 299-307.

De la Cruz, J. A; Rodriguez, A; Tejedor, C; De Lucas, E; Orozco, L. R. 1986. Isolation and identification of *Y. ruckeri* causal agent of ERM for the first time in Spain. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 6 (2): 43.

De Grandis, S. A; Krell, P. J; Flett, D. E; Stevenson, R. M. W. 1988. Desoxyribonucleic acid relatedness of serovars of *Yersinia ruckeri*, the enteric redmouth bacterium. Int. J. Syst. Bacteriol. 38: 49–55.

Dulin, M. P; Hudleston, T; Larson, R; Klontz, G. 1976. Enteric redmouth disease. Bull. College of Forestry, Wildlife and Range Science. (8):1-16.

Ellis, A. 1988. Fish Vaccination. 3rd ed., Academic Press. Londres.

Ewing, W. H; Ross, A. J; Brenner, D. J; Fanning, G. R. 1978. *Yersinia ruckeri* sp. nov., the Redmouth Bacterium. Int. J. Syst. Bacteriol. 37-44.

FAO. 2010a. FAO anuario. Estadísticas de pesca y acuicultura 2008. Roma, FAO. 72 pp.

FAO. 2010b. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2010. Roma, FAO. 219 pp.

Fernandez, L; Lopez, J. R; Secades, P; Menendez, A; Marquez, I; Guijarro, J. A. 2003. In vitro and in vivo studies of the Yrp1 protease from *Yersinia ruckeri* and Its role in protective immunity against enteric red mouth disease of salmonids. Appl. Environ. Microbiol. 69 (12): 7328-7335.

Fortt, Z. A. 2007. Uso y abuso de antibióticos en la salmonicultura. Documento 23. Oceana. pp. 13.

<[http://www.na.oceana.org/sites/default/files/o/fileadmin/oceana/uploads/americanadel sur/documentos\\_2007/Uso\\_antibioticos\\_en\\_la\\_salmonicultura.pdf](http://www.na.oceana.org/sites/default/files/o/fileadmin/oceana/uploads/americanadel sur/documentos_2007/Uso_antibioticos_en_la_salmonicultura.pdf)>

Acceso: 11/02/2011.

Frerichs, G. N; Stewart, J. A; Collins, R. 1985. Atypical infection of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, with *Yersinia ruckeri*. J. Fish Dis. 8 (4): 383-387.

Furones, M. D; Rodgers, C. J; Munn, C. B. 1993. *Yersinia ruckeri*, the causal agent of enteric redmouth disease (ERM) in fish. Annual Review of Fish Diseases. 3: 105–125.

Hunter, V. A; Knittel, M. D; Fryer, J. L. 1980. Stress-induced transmission of *Yersinia ruckeri* infection from carriers to recipient steelhead trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Dis. 3 (6): 467–472.

Inglis, V; Cafini, M; Yoshida, T. 1995. The interaction of trimethoprim and quinolones against Gram-negatives fish pathogens. J. Appl. Bacteriol. 79: 135-140.

Inglis, V; Roberts, J. R; Bromage, R. N. 2001. Bacterial diseases of fish. 1st ed. Blackwell science Ltd. Oxford. 312 pp.

Karatas, S; Candan, A; Demircan, D. 2004. Enteric redmouth disease in cultured rainbow trout (*O. mykiss*) on the black sea coast of Turkey. Isr. J. Aquac. Bamidgeh. 56 (3): 226-231.

Luna, L. G. 1960. Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. 3 rd. ed. Mc Graw-Hill. New York. 32-38.

Mc Ardle, J. F; Dooley, M. C. 1985. Isolation of *Yersinia ruckeri* type I (Hagerman strain) from goldfish *Carassius auratus* (L). Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol. 5 (1): 10.

Mc Daniel, D. W. 1971. Hagerman red mouth, a new look at an old fish problem. Amer. Fish U. S. Trout News, str. 15 (5): 14-28.

Meir, W. 1986. Enteric redmouth disease: outbreak in rainbow trout in Switzerland. Dis. Aquat. Org. 2: 81-82.

Mendoza, B. R; Palomino, R. A. 2004. Manual de cultivo de trucha arco iris en jaulas flotantes. Subproyecto "Programa de transferencia de tecnología en acuicultura para pescadores artesanales y comunidades campesinas". FONDEPES, AECI, PADESPA. 39 pp.

Michel, C; Kerouault, B; Martin, C. 2003. Chloramphenicol and florfenicol susceptibility of fish-pathogenic bacteria isolated in France: comparison of minimum inhibitory concentration, using recommended provisory standards for fish bacteria. J. Appl. Microbiol. 95: 1008-1015.

PRODUCE (Ministerio de la Producción del Perú). 2010a. (en línea). Exportación de productos hidrobiológicos procedentes de la actividad de acuicultura según especie y país de destino, enero - diciembre 2010. (Tabla estadística).

<[http://www.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU03/2010/diciembre/05\\_09.pdf](http://www.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU03/2010/diciembre/05_09.pdf)>. Acceso: 4/02/2011.

PRODUCE (Ministerio de la Producción del Perú). 2010b. (en línea). Elaboración de estudio de mercado de la trucha en Arequipa, Cusco, Lima, Huancayo y Puno.

<[http://www.produce.gob.pe/RepositorioAPS/1/jer/PROPESCA\\_OTRO/difusion-publicaciones/b\)%20DGAJul10%20Estudio%20Mercado%20Trucha%20PUNO.pdf](http://www.produce.gob.pe/RepositorioAPS/1/jer/PROPESCA_OTRO/difusion-publicaciones/b)%20DGAJul10%20Estudio%20Mercado%20Trucha%20PUNO.pdf)> . Acceso: 4/02/2011.

PRODUCE (Ministerio de la Producción del Perú). 2011. (en línea). Estudio sobre la maricultura de la trucha a nivel mundial, el desenvolvimiento de la importación de ovas, la tendencia de la producción nacional y su comercialización.

<http://www.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/DGA-PUBLICACIONES/Estudio-Desenvolvimiento-de-trucha-2010.pdf>. Acceso: 4/02/2011.

National Comitee for clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2005). (en línea). <[http://www.who.int/salmsurv/activities/bulletin\\_board/en/Attachment%20to%20mes sage%20092005%20spanish%20std.pdf](http://www.who.int/salmsurv/activities/bulletin_board/en/Attachment%20to%20mes sage%20092005%20spanish%20std.pdf) >. Acceso: 12/08/09.

O'Leary, P. J; Rohovec, J. S; Fryer, J. L. 1979. A further characterization of *Yersinia ruckeri* (enteric redmouth bacterium). Fish Pathol. 14(2): 71-78.



Petrie, J; Bruno, D. W; Hastings, T. S. 1996. Isolation of *Yersinia ruckeri* from wild, Atlantic salmon, *Salmo salar* L. in Scotland. Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol. 16 (3): 83.

Post, G. 1987. Pathogenic *Yersinia ruckeri*, enteric redmouth disease (yersiniosis). In: textbook of fish health (ed. By G. Post). THF Publications Inc., Neptune City, NY. 47-51.

Roberts, M. S. 1983. A report of an epizootic in hatchery reared rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, at an English trout farm, caused by *Yersinia ruckeri*. J. Fish Dis. 6: 551–552.

Rodgers, C. J; Austin, B. 1982. Oxolinic acid for control of enteric redmouth disease in rainbow trout. Vet Rec. p. 83.

Rodgers, C. J. 1991. The usage of vaccination and antimicrobial agents for control of *Yersinia ruckeri*. J. Fish Dis. 14: 291-301.

Ross, A. J; Rucker, R. R; Ewing, W. H. 1966. Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Microbiol. 12: 763-770.

Ross, A. J; Smith, C. A. 1972. Effect of two iodophors on bacterial and fungal fish pathogens. J. Fish. Res. Board Can. 29 (9): 1359-1361.

Romalde, J. L; Toranzo, A. E. 1991. Evaluation of the API 20E system for the routine diagnosis of the Enteric Redmouth Disease. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 11: 147-149.

Romalde, J. L; Magariños, B; Barja, J. L; Toranzo, A. L. 1993. Antigenic and molecular characterization of *Yersinia ruckeri*. Proposal for a new intraespecies classification. System. Appl. Microbiol. 16: 411-419.

Romalde, J. L; Magariños, B; Pazos, F; Silva, A; Toranzo A. E. 1994a. Incidence of *Y. ruckeri* in two farms in Galicia (NW Spain) during a one-year period. J. Fish Dis. Short Communications. 17: 553-539.

Romalde, J. L; Magariños, B; Barja, J. L; Toranzo, A. L. 1994b. Starvation survival processes of the bacterial fish pathogen *Yersinia ruckeri*. System. Appl. Microbial. 17: 161-168.

Rucker, R. R. 1966. Redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Bull. Off. Int. Epiz. 65 (506): 225-230.

Sauter, R. W; Williams, C; Celnik, B; Meyer, E. A. 1985. (en línea). Etiology of early lifestage diseases. Final report. Univ. Oregon Health Sci. 17-29.  
<<http://www.efw.bpa.gov/cgi-bin/efw/FW/publications.cgi>> Acceso: 1/11/2010.

Sousa, J. A; Nuñez, S; Eiras, J. C; Toranzo, A. E. 1994. *Yersinia ruckeri* in Portugal. Characterization of the first isolates from fish and environment. Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol. 14 (4): 113.

Sparboe, O; Koren, C; Hastén, T; Poppe, T. 1986. The first isolation of *Yersinia ruckeri* from farmed Norwegian salmon. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 6 (2): 41.

Stevenson, R. M. W; Daly, J. G. 1982. Biochemical and serological characteristics of Ontario isolates of *Yersinia ruckeri*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39: 870-876.

Stevenson, R. M. W; Airdrie, D. W. 1984. Serological variation among *Yersinia ruckeri* strains. J. Fish Dis. 7: 247-254.

Svendsen, Y. S; Bogwald, J. 1997. Influence of artificial wound and non-intact mucus layer on mortality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following a bath challenge with *Vibrio anguillarum* and *Aeromonas salmonicida*. 7: 317-325.

Thorsen, B; Enger, I; Norland, S; Arnehoff, K. 1992. Long term starvation survival of *Yersinia ruckeri* at different salinities studied by microscopical and flow cytometric methods. American Society for Microbiology (ASM). 58 (5): 1624-1628.

Tobback, E; Decostere, A; Hermans, K; Haesebrouck, F; Chiers, K. 2007. *Yersinia ruckeri* infections in salmonid fish. J. Fish Dis. 30: 257-268.

Tobback, E. 2009. (en línea). Early pathogenesis of *Yersinia ruckeri* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum. Thesis Ph. D. Fac. Vet. Univ. Ghent. 15-33.

<[http://www.phdportal.ugent.be/partners/ugent/2009-08-24-els\\_tobback/popup/full%20thesis.pdf](http://www.phdportal.ugent.be/partners/ugent/2009-08-24-els_tobback/popup/full%20thesis.pdf)>. Acceso: 1/11/2010.

Toranzo, A. E; Baya, A; Roberson, B. S; Barja, J. L; Grimes, D. J; Hetrick, F. M. 1987. Specificity of slide agglutination test for detecting bacterial fish pathogens. Aquaculture. 61: 81–97.

Toranzo, A. E; Romalde, J. L; Magariños, B; Barja, J. L. 2009. Present and future of aquaculture vaccines against fish bacterial diseases. Options Méditerranéennes, serie A. 86: 160-161.

<<http://ressources.ciheam.org/om/pdf/a86/00801069.pdf>>. Acceso: 14/12/2010

Troncoso, H; Miriam, T. M; Toledo, B; María, S. 1994. (en línea). Aislamiento de *Yersinia ruckeri* en salmónidos de cultivo. Rev. Avances en Ciencias Veterinarias.

<<http://www.revistas.uchile.cl/index.php/ACV/article/view/4743/4629>>.

Acceso: 10/03/2007.

Valtonen, E. T; Rintamaki, P; Koskivaara, M. 1992. Occurrence and pathogenicity of *Yersinia ruckeri* at fish farms in northern and central Finland. J. Fish Dis. 15: 163-171.

Vuillaume, A; Brun, R; Chene, P; Sochon, E; Lesel, R. 1987. First isolation of *Yersinia ruckeri* from sturgeon, *Acipenser Brandt* in South West of France. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 7 (1): 18.

Waltman, W. D; Shotts, E. B. 1984. A medium for the isolation and differentiation of *Yersinia ruckeri*. Can. J. Fish Aquat. Sci. 41: 804-806.

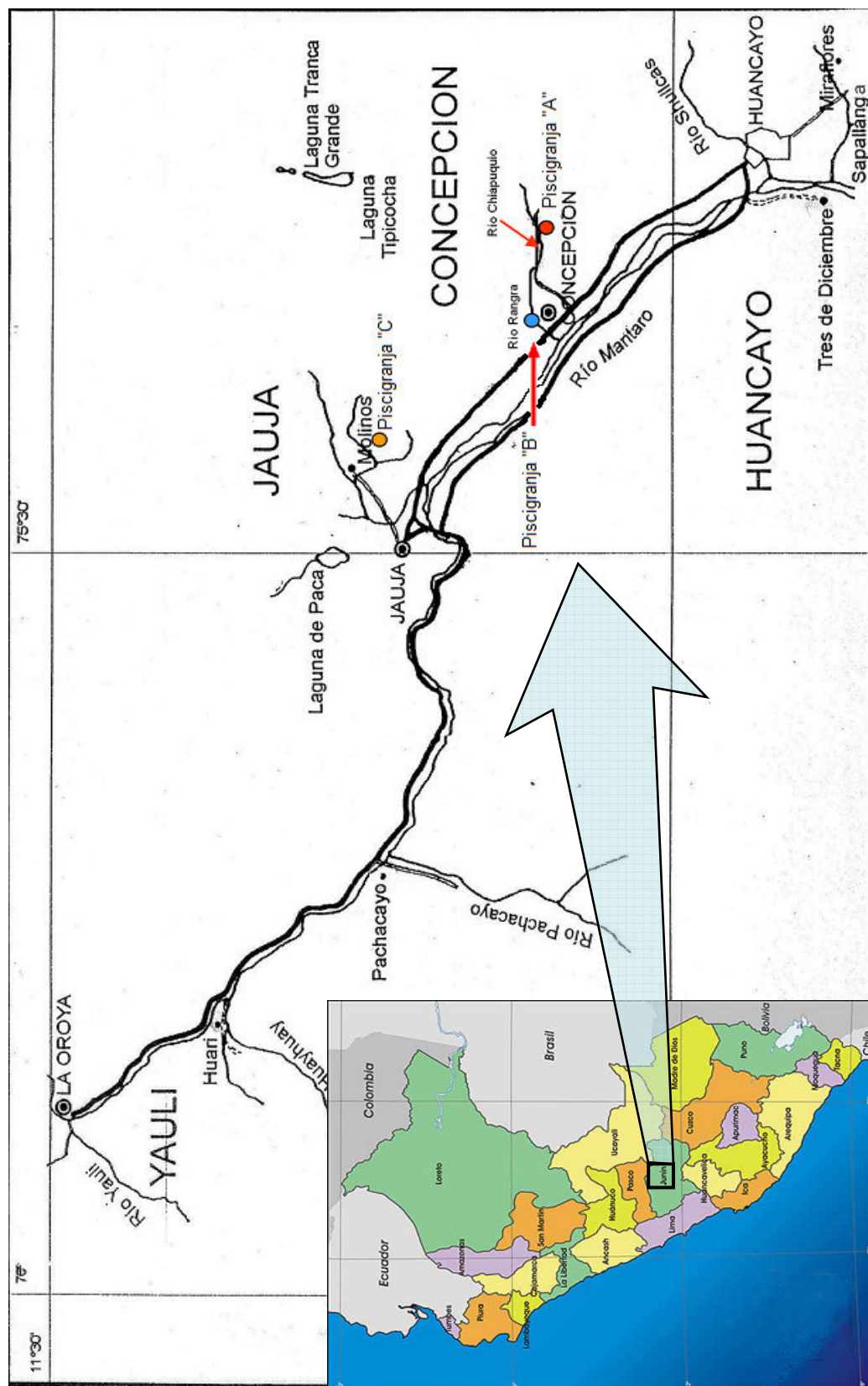
Willumsen, B. 1989. Birds and wild fish as potential vectors of *Yersinia ruckeri*. J. Fish Dis. 12: 275-277.

Wobeser, G. 1973. An outbreak of redmouth disease in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in Saskatchewan. J. Fish. Res. Board Can. 30: 571-575.

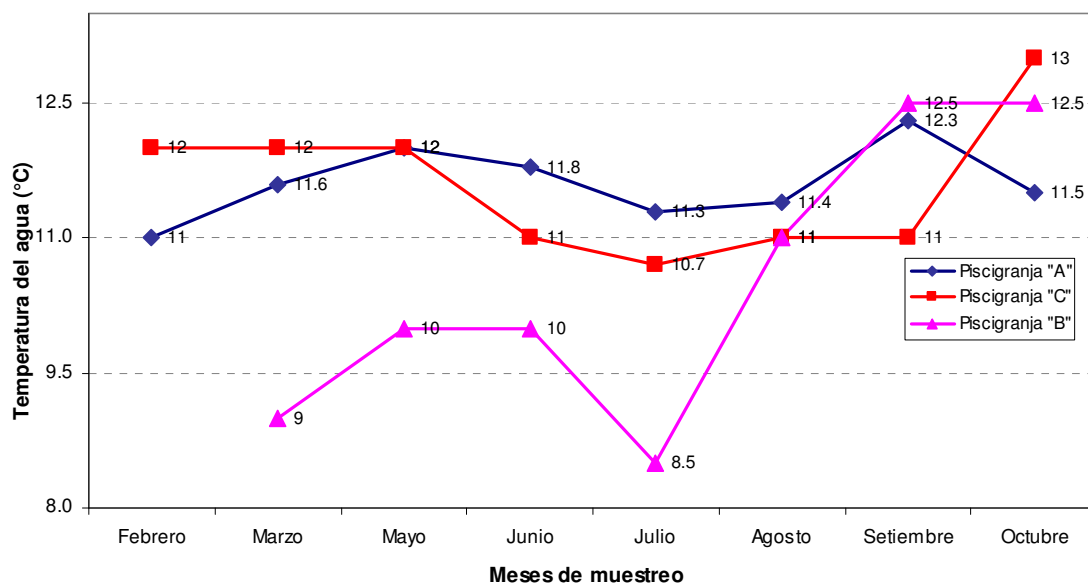
Woodland, J. 2006. Laboratory procedures manual. Bacteriology. Div. of fish hatcheries. 4 th ed. Washington, D.C. 5-12.

Yoshimizu, M. 2000. Already presented, introduced and unrecognized salmonid diseases in Japan. Aquabiology. 22 (1): 18-27.

## **XI. FIGURAS**



**Figura 1.** Localización de las piscigranjas en la región central del Perú con sus respectivos ríos.

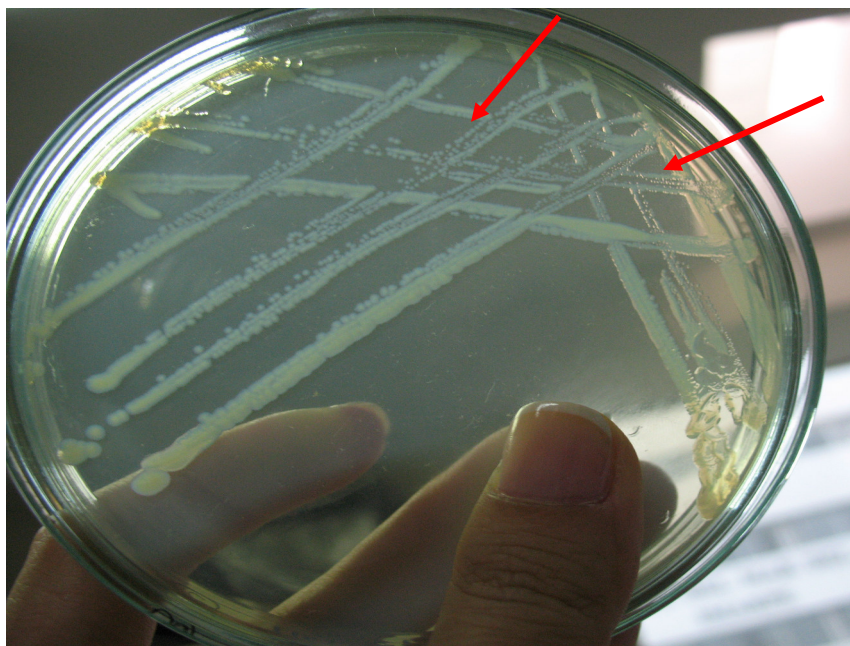


**Figura 2.** Variación de la temperatura del agua en las piscigranjas estudiadas, según los meses del muestreo.

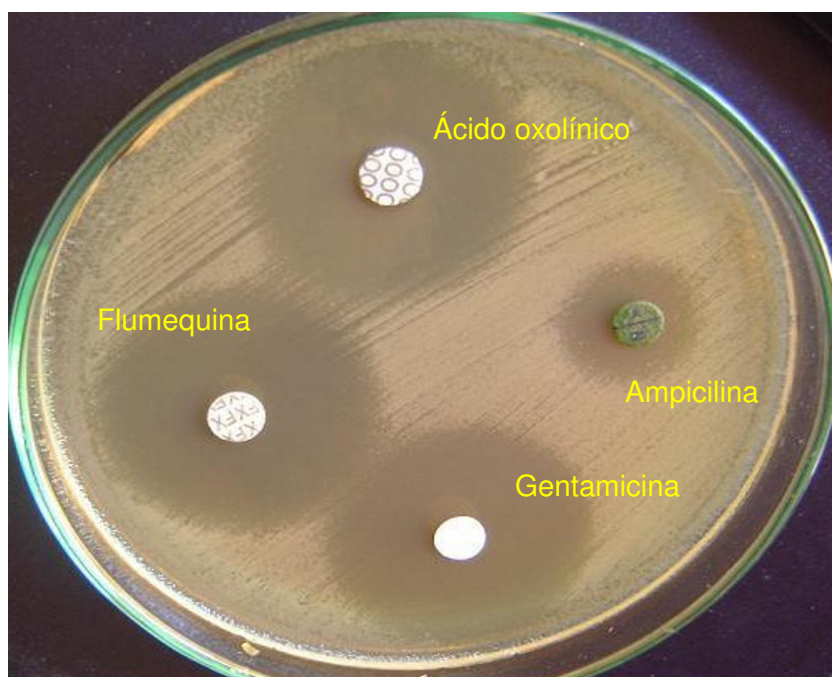


**Figura 3.** Procesamiento de la muestra en el Laboratorio del Centro Piscícola “El Ingenio” - Huancayo, 2008.



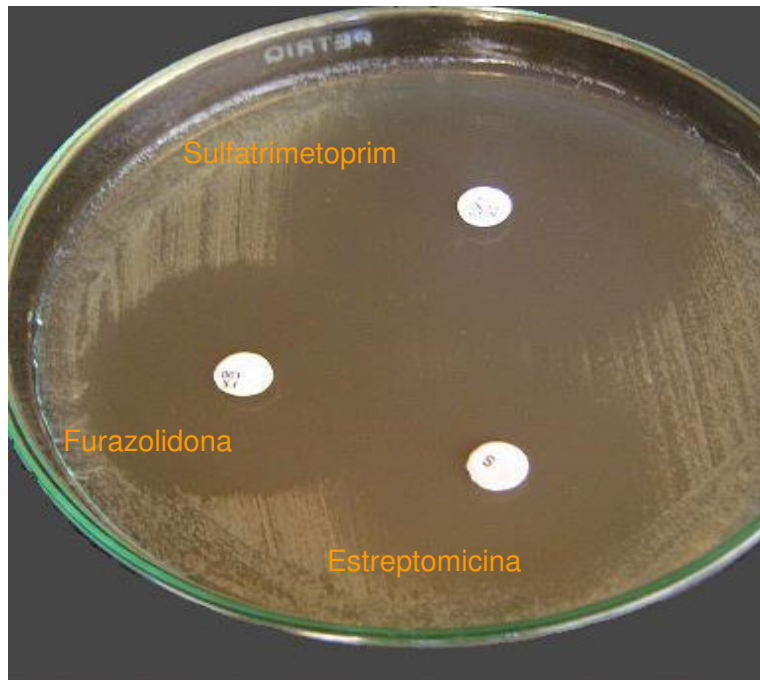


**Figura 4.** Cultivo de *Yersinia ruckeri* en el medio Agar Tripticasa Soya (TSA), mostrando colonias blanca-cremosas e iriscentes al reflejo de la luz (flechas).



**Figura 5.** Sensibilidad antibiótica de una cepa de *Yersinia ruckeri* a los principales quimioterápicos de uso frecuente en acuicultura.





**Figura 6.** Antibiograma de una cepa de *Yersinia ruckeri* en Agar Muller Hinton, mostrando alta sensibilidad frente a otro grupo de antibióticos.



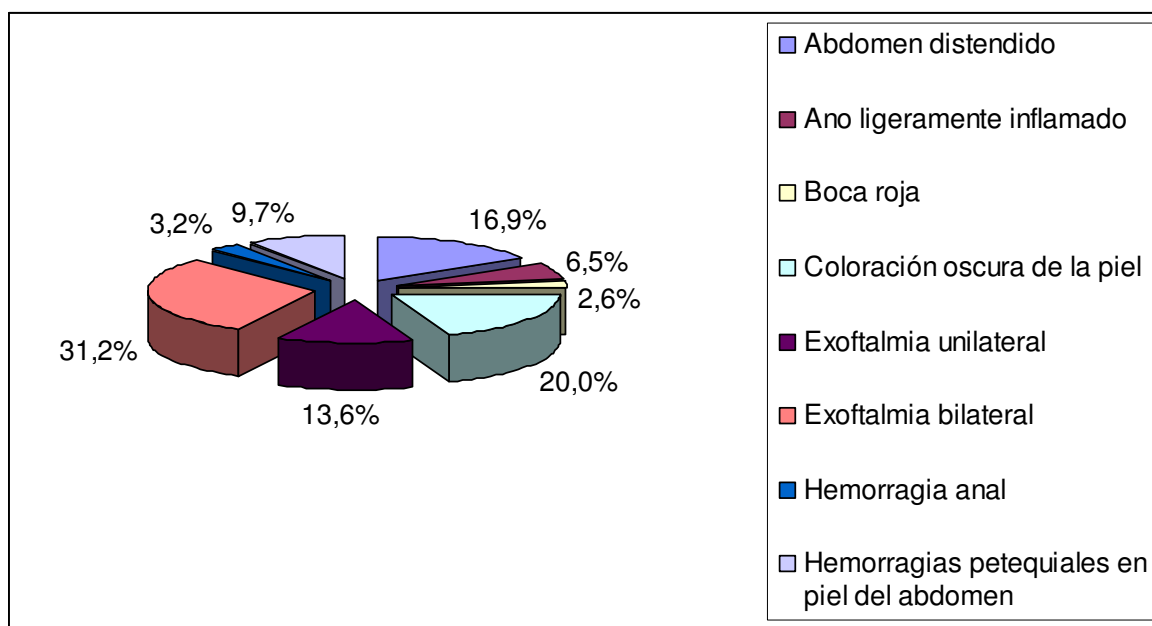
**Figura 7.** Ejemplar juvenil perteneciente a la piscigranja C, con signos presuntivos de una yersiniosis (ERM) como la exoftalmia bilateral y melanosis de la piel.



**Figura 8.** Espécimen procedente de la piscigranja B, que muestra el abdomen distendido.



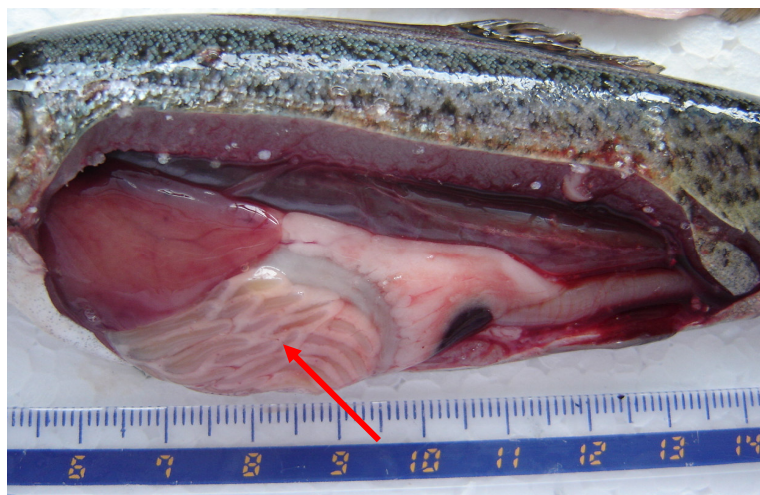
**Figura 9.** Muestra de la piscigranja A, en la que se observa exoftalmia unilateral derecha (flecha).



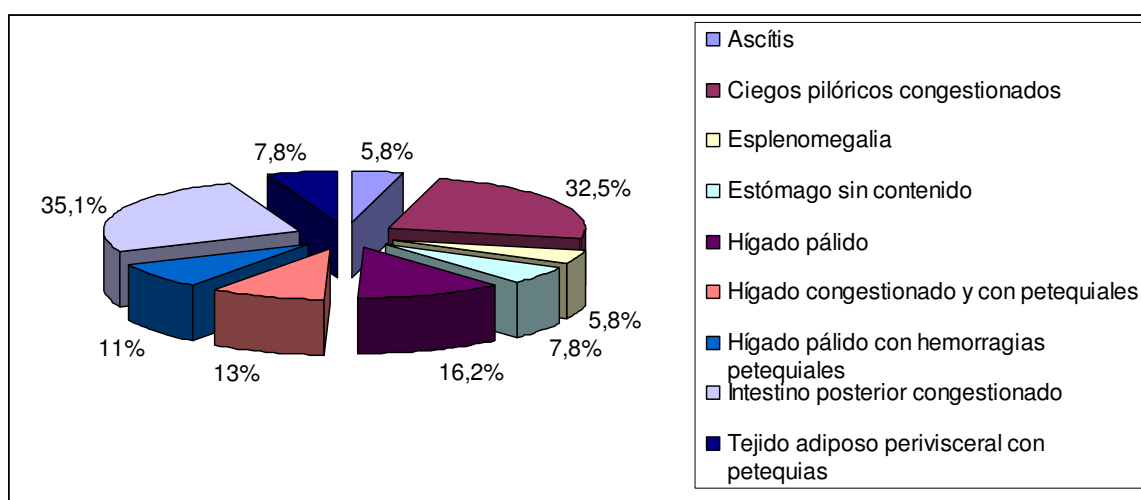
**Figura 10.** Frecuencia de signos externos de la enfermedad entérica de la boca roja (ERM) detectadas en las piscigranjas de la región central del Perú, 2008.



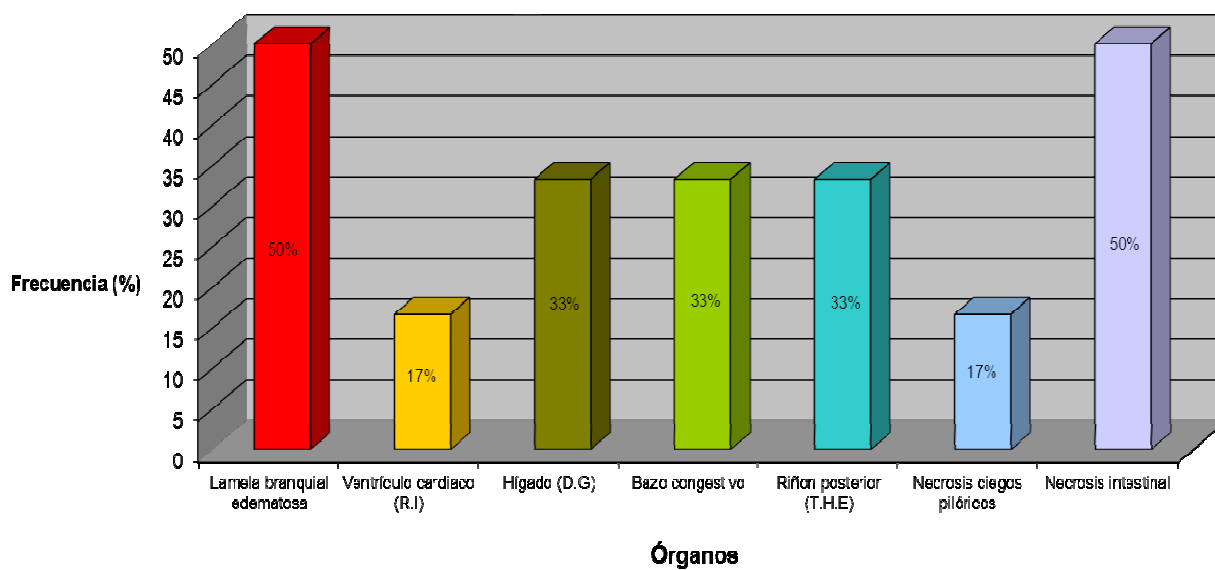
**Figura 11.** Trucha de la piscigranja A, en la cual se muestra el intestino posterior congestionado (flecha).



**Figura 12.** Ejemplar perteneciente a la piscigranja C, en el que se aprecian los ciegos pilóricos congestionados (flecha).

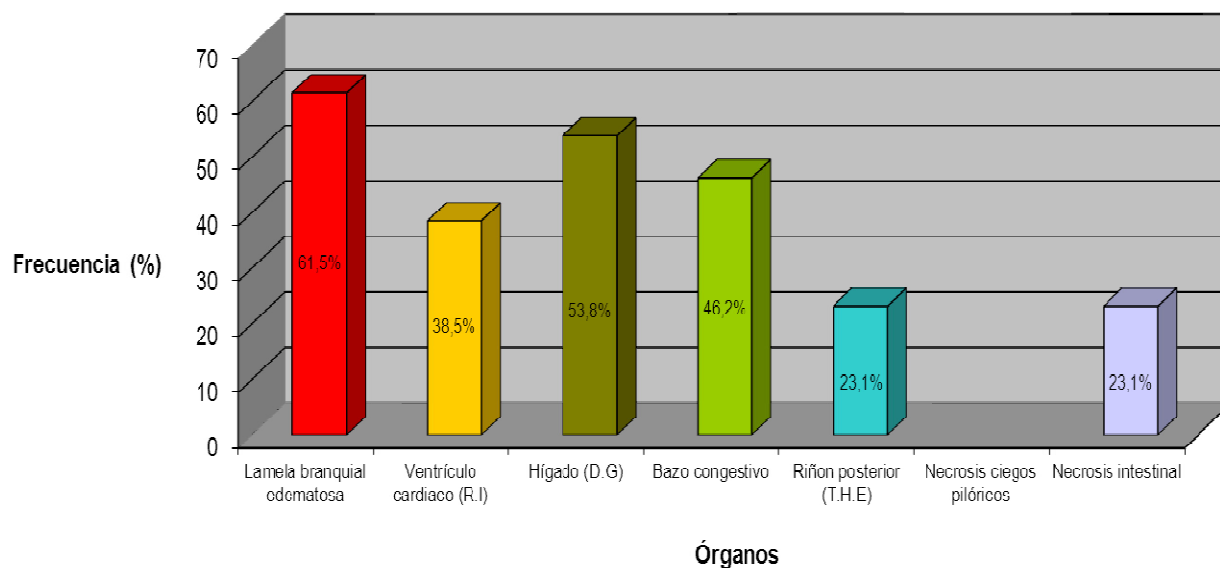


**Figura 13.** Frecuencia de signos internos en la enfermedad entérica de la boca roja detectadas en las piscigranjas de la región central del Perú, 2008.



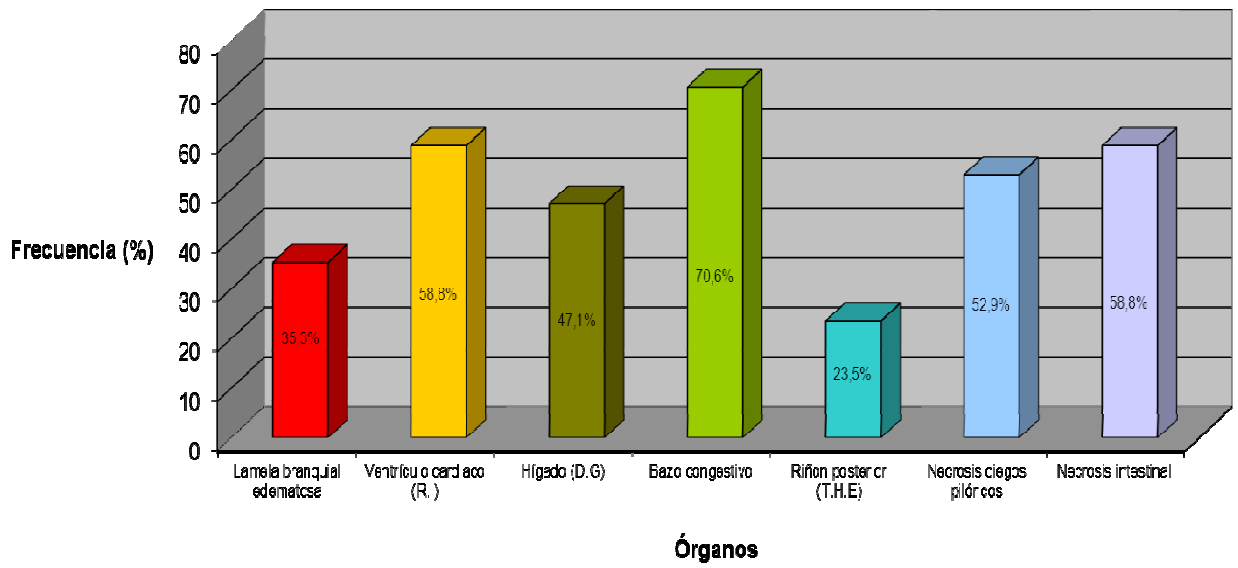
R.I = Reacción inflamatoria, D.G = Degeneración grasa, T.H.E =Tejido hematopoyético escaso

**Figura 14.** Frecuencia de lesiones histopatológicas en la piscigranja A.

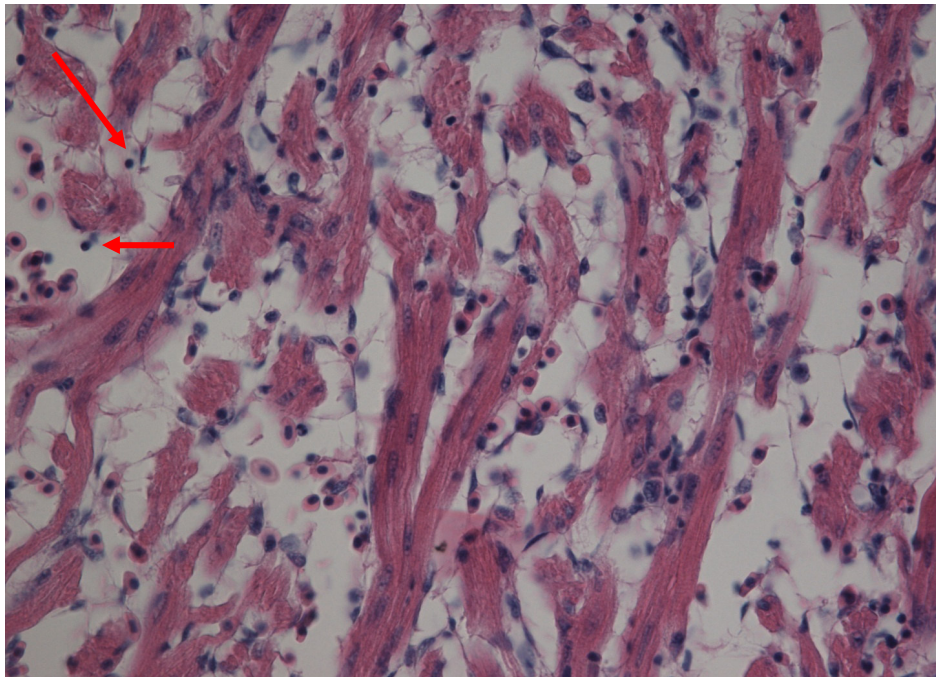


**Figura 15.** Frecuencia de lesiones histopatológicas en la piscigranja B.

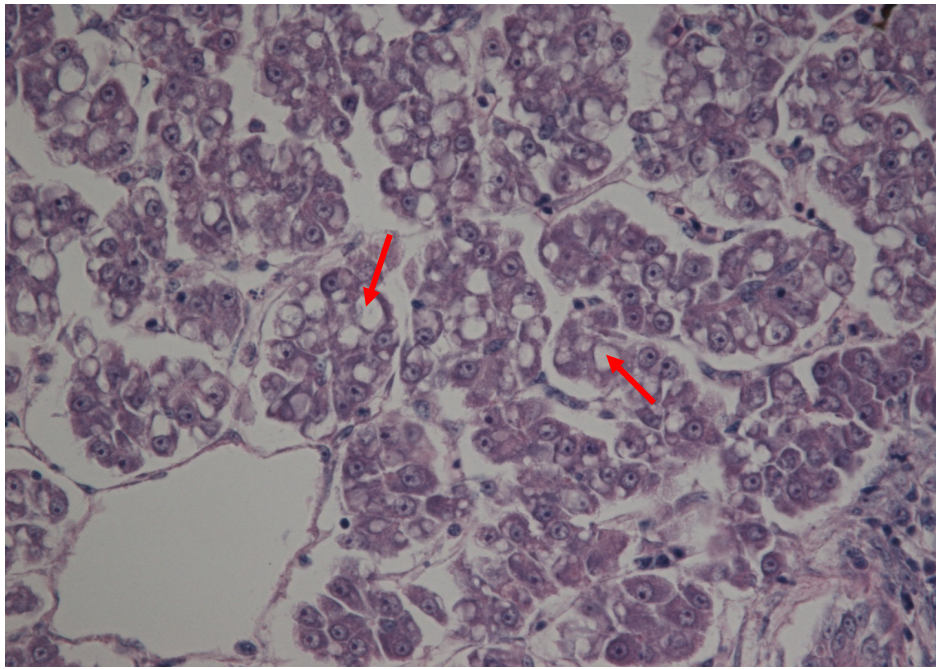




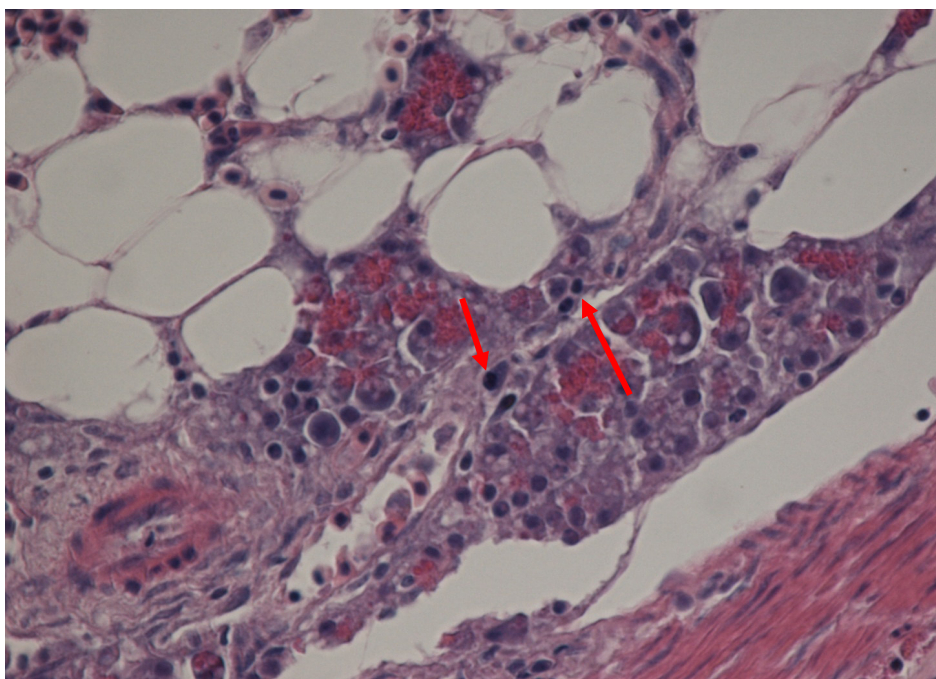
**Figura 16.** Frecuencia de lesiones histopatológicas en la piscigranja C.



**Figura 17.** Observación histopatológica del ventrículo cardiaco con marcada reacción inflamatoria a nivel del miocardio (flechas). Aumento: 60X.

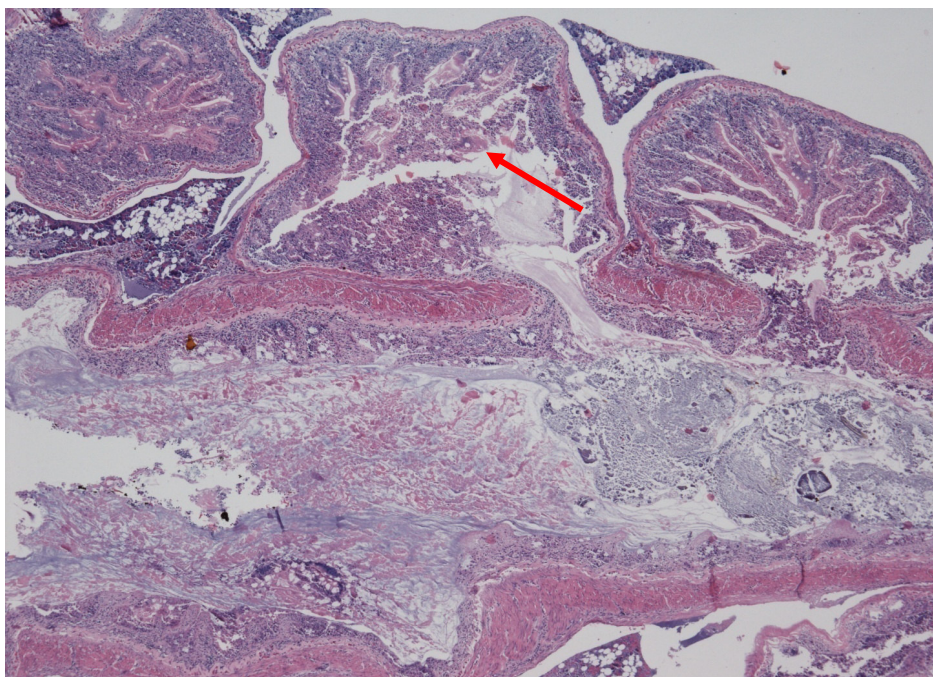


**Figura 18.** Tejido hepático: degeneración grasa de hepatocitos (flechas). Aumento: 40X.



**Figura 19.** Necrosis de células centroacinares en el páncreas, obsérvese picnosis nuclear de dichas células (flechas). Aumento: 60X





**Figura 20.** Severa necrosis en los ciegos pilóricos (flecha). Aumento: 4X.



## **XII. TABLAS**

**Tabla 3.** Temperatura del agua en las piscigranjas A, B y C durante los meses muestreados, 2008.

<b>Meses</b>	<b>Piscigranjas</b>		
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
Febrero	11	-	12
Marzo	11,6	9	12
Mayo	12	10	12
Junio	11,8	10	11
Julio	11,3	8.5	10,7
Agosto	11,4	11	11
Setiembre	12,3	12.5	11
Octubre	11,5	12,5	13
<b>Temperatura promedio (°C)</b>	<b>11,6</b>	<b>10,5</b>	<b>11,6</b>

**Tabla 4.** Tamaño de las muestras por piscigranja de acuerdo al estadio estudiado.

<b>Estadio</b>	<b>Rango de tallas (cm)</b>	<b>Pesos (g)</b>	<b>Nº de ejemplares por piscigranja</b>		
			<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
Alevín	3,0 - 10,0	0,30 – 11,7	22	-	3
Juvenil	10,0 - 15,0	11,7 – 36,6	24	6	34
Comercial	15,0 - 33,0	36,6 – 45,5	19	28	18
<b>TOTAL</b>			<b>65</b>	<b>34</b>	<b>55</b>

**Tabla 5.** Tabla de interpretación de antibiogramas según halos de inhibición (mm) indicados por NCCLS.

<b>Antimicrobiano</b>	<b>Sigla</b>	<b>Resistente (R)</b>	<b>Intermedio (I)</b>	<b>Sensible (S)</b>
Ac. Nalidíxico	NA	≤ 13		≥ 19
Ac. Oxolínico	AOX	≤ 10		≥ 11
Ampicilina	AM	≤ 13		≥ 17
Estreptomicina	S	≤ 11		≥ 15
Florfenicol	FXL	≤ 16	17 - 20	≥ 21
Flumequina	FX	≤ 16	17 - 19	≥ 20
Furazolidona	FX 100	≤ 14		≥ 17
Gentamicina	GE	≤ 12		≥ 15
Oxitetraciclina	OXT	≤ 14	15 - 18	≥ 19
Sulfatrimetoprim	SXT	≤ 10	15 - 11	≥ 16

**Tabla 6.** Lugar y fecha de aislamiento de cepas de *Yersinia ruckeri* en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*.

<b>Cepa</b>	<b>Fecha de aislamiento</b>	<b>Lugar de aislamiento</b>
1	22/02/2008	Piscigranja C
2	22/02/2008	Piscigranja C
3	22/02/2008	Piscigranja C
4	22/02/2008	Piscigranja C
5	22/02/2008	Piscigranja C
6	21/03/2008	Piscigranja C
7	21/03/2008	Piscigranja C
8	21/03/2008	Piscigranja C
9	21/03/2008	Piscigranja C
10	21/03/2008	Piscigranja C
11	22/06/2008	Piscigranja C
12	21/07/2008	Piscigranja C
13	21/07/2008	Piscigranja C
14	01/10/2008	Piscigranja C
15	01/08/2008	Piscigranja A
16	01/08/2008	Piscigranja C
17	02/08/2008	Piscigranja C
18	02/08/2008	Piscigranja C
19	01/05/2008	Piscigranja C
20	01/05/2008	Piscigranja C
21	01/09/2008	Piscigranja C
22	01/09/2008	Piscigranja C
23	01/05/2008	Piscigranja A
24	02/05/2008	Piscigranja C
25	22/03/2008	Piscigranja B
26	20/02/2008	Piscigranja A
27	21/03/2008	Piscigranja A
28	23/05/2008	Piscigranja B
29	26/06/2008	Piscigranja B
30	24/07/2008	Piscigranja B

**Tabla 7.** Características bioquímicas de cepas de *Yersinia ruckeri* aisladas de tres piscigranjas estudiadas de la sierra central del Perú, 2008.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS	CEPAS																													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Citocromo oxidasa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O/F glucosa	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
Motilidad	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
Producción de indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Producción de H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rojo de metilo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrato	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TSI	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A
Degradación de gelatina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Producción de ácido:																														
Arabinosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Manitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melobiosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xilosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

F: Fermentador, M: Móvil, +: Positivo, -: Negativo, K: alcalinidad, A: Acidez

**Tabla 8.** Pruebas serológicas y bioquímicas (API 20E) de las cepas de *Yersinia ruckeri*, 2008.

Cepa	Aglutinación				DOT BLOT		API 20E
	11.4 (O1a)		11.29 (O1b)		11.4 (O1a)	11.29 (O2b)	Perfil Numérico
	C	AO	C	AO	AO	AO	
1	++	++	-		++	-	5104100
2	++	++	-		++	-	5104100
3	++	++	-		++	-	5104100
4	++	++	-		++	-	5107100
5	++	++	-		++	-	5104100
6	++	++	-		++	-	5104100
7	++	++	-		++	-	5104100
8	++	++	-		++	-	5104100
9	++	++	-		++	-	5104100
10	++	++	-		++	-	5104100
11	++	++	-		++	-	5104100
12	++	++	-		++	-	5104100
13	++	++	-		++	-	5104100
14	++	++	-		++	-	5107100
15	++	++	-		++	-	5105100
16	++	++	-		++	-	5105100
17	++	++	-		++	-	5105100
18	++	++	-		++	-	5105100
19	++	++	-		++	-	5105100
20	++	++	-		++	-	5105100
21	++	++	-		++	-	5105100
22	++	++	-		++	-	5105100
23	++	++	-		++	-	5105100
24	++	++	-		++	-	5105100
25	++	++	-		++	-	5105100
26	++	++	-		++	-	5104100
27	++	++	-		++	-	5104100
28	++	++	-		++	-	5104100
29	++	++	-		++	-	5104100
30	++	++	-		++	-	5104100

O1 a: Serotipo 1, subgrupo a.

O1 b: Serotipo 1, subgrupo b.

O2 b: Serotipo 2, subgrupo b.

C: Aglutinación frente a célula completa.

AO: Aglutinación frente a antígeno "O".

**Tabla 9.** Medidas de los halos de inhibición (mm) de los discos de sensibilidad antibiótica frente a las cepas de *Y. ruckeri*.

Cepas	Ac. Nalidixico (30 µg)			Ac. Oxolínico (1 µg)			Ampicilina (25 µg)			Estreptomicina (10 µg)			Florfenicol (30 µg)		
	P1	P2	X	P1	P2	X	P1	P2	X	P1	P2	X	P1	P2	X
1	32	31	31,5	20	19,8	19,9	31	32	31,5	28	27	27,5	40	39,5	39,8
2	37	37,7	37,4	18	18,7	18,3	34	35	34,5	32	31,7	32	39	39,8	39,4
3	35	35,5	35,3	22	21,5	21,7	30	30,8	30	23,8	23,5	23,6	46	45,7	45,9
4	37	36,8	36,9	16	17	16,5	46	46,5	46	28	28,8	28	47	47	47
5	41	41	41	26	25	25,5	38	37,8	38	35	34	34,5	50	49,9	50
6	33	33,5	33,3	18	17,6	17,8	40,5	40	40	31	30,7	31	39,5	38	38,8
7	38	38,9	38,5	22	21	21,5	32	32	32	32	31	31,5	42	40	41
8	39	38,6	38,8	22	21,5	21,7	40	39,9	40	39	38,6	39	46	45,5	45,8
9	35	34	34,5	20	20,8	20,4	20	19,8	20	26,5	26	26	49	49,3	49,2
10	33,5	33	33,3	21	21	21	40	39	39,5	32	32	32	46	45	45,5
11	36,5	37	36,8	25	24	24,5	32	31,8	32	31,7	32	32	48,5	47	47,8
12	26	25	25,5	20	19,8	19,9	34	34	34	24	23,9	24	40	39,7	39,9
13	27	27,8	27,4	22,5	22	22,2	19,5	19	19	23,5	23	23	22,5	21,8	22,2
14	28	29	28,5	30,5	30	30,2	19	18,8	19	25	24	24,5	24	23	23,5
15	32	31,7	31,9	19,5	19,8	19,6	38	37,5	38	28	27,6	28	42	41	41,5
16	32	31	31,5	18,5	18	18,2	20	19	19,5	22	21	21,5	40	39,9	40
17	36	35,6	35,8	21,5	21,9	21,7	44	43,6	44	24	23,8	24	42	41	41,5
18	30	30	30	21,5	21	21,2	32	32	32	32	31	31,5	45	44,7	44,9
19	31,5	31,6	31,5	18	19	18,5	37,7	36,8	37,3	28	27,6	28	40	39	39,5
20	31	30,8	30,9	25	25,5	25,2	32	31	31,5	32	32,9	32	38,5	38	38,3
21	24	23	22,7	22	22	22	39,5	38,5	39	21,5	20	20	28,5	28,7	28,6
22	32	30	31	26	24	25	36	35	35,5	36	35	35,5	45	45	45
23	33	33,5	33,3	21	22	21,5	38	39,7	38	27	26,5	27	41	42	41,5
24	29	28	28,5	24	25	24,5	34	34,5	34	31	32	31,5	47	48,5	47,8
25	35,6	35	35,3	20,6	20	20,3	37,5	38	38	38,6	38	38	38	39,8	38,9
26	30	31,8	30,9	19,5	19	19,2	43	44	43,5	32	31,7	32	39,5	39	39
27	37,7	37	37,4	22	22,5	22,2	31	30,8	31	24	24,8	24	40	40	40
28	30	31	30,5	30	29,8	29,9	32,8	32	32	26	27	26,5	41	41,8	41,4
29	38	39,9	39	18	18	18	19	20	19,5	23,7	24	24	28	28,9	28,5
30	23	24,8	23,9	24	23,7	23,8	39,9	40,5	40,2	21	21	21	46	45	45,5
Prom. Total			35,3		21,5	21,5			33,8			28,3			40,6

(Continúa)

Tabla 9. (continuación)

Cepas	Flumequina (30 µg)			Furazolidona (100 µg)			Gentamicina (10 µg)			Oxitetraciclina (30 µg)			Sulfatrimetoprim (25 µg)		
	P1	P2	X	P1	P2	X	P1	P2	X	P1	P2	X	P1	P2	X
1	33	33,5	33,3	24	24,8	24,4	24	25	24,5	38	37	37,5	47	48	47,5
2	36	37	36,5	22	22,5	22,3	32,5	32	32	23	22,8	22,9	40	40,8	40,4
3	34	33	33,5	29	28	28,5	35,7	35	35	45	45,5	45,3	52	51	51,5
4	37	37,5	37,3	30	31	30,5	30	29,8	30	43	42,7	42,9	55,5	55	55,3
5	31,7	31	31	24	24,5	24,3	32	31	31,5	48,5	48	48,3	51	50	50,5
6	30	30	30	30,8	30	30,4	32,5	31,5	32	39,5	38,6	39	40	39,8	39,9
7	38	37,7	38	30	29	29,5	34	33	33,5	48	47,7	47,9	50	51	50,5
8	34	34,5	34	27	27,5	27,3	40	39,7	40	22	23	22,5	42,8	42	42,4
9	34	33	33,5	26	27	26,5	32	32	32	48	47	47,5	48	47,5	47,8
10	28	28,5	28	30	30,8	30,4	32	30,9	32	46	45,5	45,8	50	51	50,5
11	30	31	30,5	24	24,5	24,3	33	32,8	33	46	45	45,5	39	38,5	38,8
12	29	29	29	29	28	28,5	26	25	25,5	42	41	41,5	40	41	40,5
13	31,5	31	31	27,5	27	27,3	22,5	22	22	24	23,7	23,9	47	47	47
14	27	28,5	27	29	28,8	28,9	23	24,8	23	22	23	22,5	44	43,6	43,8
15	34	33,5	33,8	27	27	27	27	26,7	27	45	45,6	45,3	58	57	57,5
16	31	30	30,5	31	30	30,5	29,5	29	29	26,5	25,5	26	52	52,5	52,3
17	30	29,5	29,8	31	30,5	30,8	29	28,6	29	44	43	43,5	53,8	54	53,9
18	33,5	32	32,8	32	31	31,5	27	28	27,5	42	42,4	42,2	49,5	50,5	50
19	36	36,5	36,3	26	26,7	26,4	34,5	34	34	42	41	41,5	56	55	55,5
20	33	32	32,5	25	24	24,5	26	26,5	26	37	37	37	44	45	44,5
21	28	28,8	28,4	21,2	21	21,1	29,5	29,8	29,7	30	29,6	29,8	46,7	46	46,4
22	34,5	34	34,3	30	29,8	29,9	37	36	36,5	47	46	46,5	52	52,5	52,3
23	31	30	30,5	27	26	26,5	30,9	32	32	42,8	42	42,4	42	42	42
24	36,5	36	36,3	29	30	29,5	22	22,7	22	45	45	45	53	53,8	55,3
25	31	30	30,5	22,5	22	22,3	26,7	27	27	23	23,6	23,3	48,6	49	48,8
26	29	29	29	31,6	32	31,8	28	27,7	28	26	25,7	25,9	56	55,8	55,9
27	32	32,5	32,3	24,7	24	24,4	32,7	33	33	46,5	46	46,3	39,6	40	39,8
28	35,8	35	35,4	26	26	26	28,8	28	28	22,8	23	22,9	52	51	51,5
29	33,5	32	28,5	28,5	29,5	29	31	30,6	31	25	26	25,5	55	56	55,5
30	30,8	30	30,4	30,7	30	30,4	34	33,8	34	45,5	45	45,3	43	43,5	43,3
Prom. Total			37,3		27,5			30				37,4			48,3

P1: Prueba 1; P2: Prueba 2



**Tabla 10.** Frecuencia de presentación de signos externos de la enfermedad entérica de la boca roja en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* en las tres piscigranjas estudiadas, 2008.

<b>Signos</b>	<b>Número de peces afectados</b>	<b>Frecuencia (%)</b>
Abdomen distendido	26	<b>17</b>
Ano ligeramente inflamado	10	6,5
Base de aletas enrojecida	5	3,2
Boca roja	4	2,6
Borde de aletas enrojecida	2	1,3
Branquias hiperémicas	2	1,3
Branquias pálidas	1	0,6
Melanosis de la piel	31	<b>20</b>
Exoftalmia bilateral	48	<b>31</b>
Exoftalmia unilateral	21	<b>14</b>
Hemorragia anal	5	3,2
Hemorragias petequiales en piel del abdomen	15	9,7
Prolapso anal	1	0,6

**Tabla 11.** Frecuencia de presentación de lesiones macroscópicas de la enfermedad entérica de la boca roja en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* en las tres piscigranjas estudiadas, 2008.

<b>Lesiones macroscópicas</b>	<b>Número de peces afectados</b>	<b>Frecuencia (%)</b>
Ascitis	9	5,8
Bazo friable	1	0,6
Ciegos pilóricos congestionados	50	<b>32,5</b>
Esplenomegalia	9	5,8
Estómago sin contenido	12	7,8
Fluido mucoso de color amarillento en intestino	3	1,9
Hígado congestionado y con petequias	22	14,2
Hígado pálido	25	<b>16,2</b>
Hígado pálido con hemorragias petequiales	17	11
Intestino posterior congestionado	54	<b>35,1</b>
Intestino sin contenido	2	1,3
Mucus transparente en intestino	2	1,3
Renomegalia	7	4,5
Tejido adiposo perivisceral con petequias	12	7,8

**Tabla 12.** Frecuencia de presentación de lesiones histopatológicas en las piscigranjas A, B y C.

Órgano	Lesión	PISCIGRANJAS						Total N° casos	Total Frecuencia (%)
		A (n=6)		B (n=13)		C (n=17)			
		N° casos	Frecuencia (%)	N° casos	Frecuencia (%)	N° casos	Frecuencia (%)		
Branquias	Lamelas								
	Edema en lamela secundaria	3	50,0	8	61,5	6	35,3	17	47,2
	Congestión	1	16,7	3	23,1	2	11,8	6	16,7
	Severa necrosis			1	7,7	5	29,4	6	16,7
	Hemorrágicas	2	33,3	1	7,7			3	8,3
	Filamento								
	Hiperplasia apical	2	33,3	4	30,8	3	17,6	9	25,0
Corazón	Aurícula:							0	
	Reacción inflamatoria con células mononucleares	1	16,7	4	30,8			5	13,9
	Necrosis endotelial					1	5,9	1	2,8
	Ventrículo:								
	Severa reacción inflamatoria con células mononucleares	1	16,7	5	38,5	10	58,8	16	44,4
	Necrosis			1	7,7	2	11,8	3	8,3
	Edema			1	7,7	1	5,9	2	5,6
	Endocardio								
	Necrosis de endotelio			3	23,1	3	17,6	6	16,7
	Desprendimiento de endotelio			1	7,7	1	5,9	2	5,6
	Reacción inflamatoria con células mononucleares	1	16,7	1	7,7	2	11,8	2	5,6
	Edematoso			2	15,4			2	5,6
	Pericardio								
	Pericarditis severa			1	7,7	1	5,9	2	5,6
	Edema	2	33,3					2	5,6

(Continúa)

(Continua)

Tabla 12. (continuación)

Órgano	Lesión	PISCIGRANJAS							Total N° casos	Total Frecuencia (%)
		A (n=6)		B (n=13)		C (n=17)				
		Frecuencia		Frecuencia		Frecuencia				
		N° casos	(%)	N° casos	(%)	N° casos	(%)	N° casos	(%)	
Hígado	<b>Hepatocitos</b>									
	Degeneración grasa	2	33,3	7	53,8	8	47,1	17	47,2	
	Necrosis de hepatocitos	3	50,0	7	53,8	6	35,3	13	36,1	
	Necrosis focal			5	38,5			8	22,2	
	<b>Capilares sinusoides</b>									
	Necrosis	6	100,0	9	69,2	8	47,1	23	63,9	
	Dilatados	2	33,3	4	30,8			6	16,7	
	Edema perivascular			6	46,2	5	29,4	11	30,6	
	<b>Glóbulos rojos</b>									
	Lisis			4	30,8			4	11,1	
Bazo	<b>Tejido hematopoyético</b>									
	Congestión de capilares sinusoides esplénicos	2	33,3	6	46,2	12	70,6	20	55,6	
	Hemorrágico	1	16,7	10	76,9	7	41,2	18	50,0	
	Necrosis			2	15,4	4	23,5	6	16,7	
Riñón	<b>Riñón posterior</b>									
	<b>Túbulos renales</b>									
	Gotas hialinas y necrosis			5	38,5	11	64,7	16	44,4	
	Edema peritubular			2	15,4	4	23,5	6	16,7	
	Restos necróticos de células epiteliales en el lumen	1	16,7	6	46,2	1	5,9	8	22,2	
	<b>Tejido hematopoyético</b>									
	Depleción	2	33,3	3	23,1	4	23,5	9	25,0	
	Necrosis multifocal			3	23,1	1	5,9	4	11,1	
	Severa necrosis	1	16,7	2	15,4	2	11,8	5	13,9	
	<b>Capilares sanguíneos</b>									
Dilatados	3	50	6	46,2			9	25,0		

(Continua)

Tabla 12. (continuación)

Órgano	Lesión	PISCIGRANJAS								Total N° casos	Total Frecuencia (%)
		A (n=6)		B (n=13)		C (n=17)					
		Frecuencia (%)	N° casos	Frecuencia (%)	N° casos	Frecuencia (%)	N° casos				
Páncreas	Tejido pancreático										
	Severa necrosis	2	33,3	1	7,7	10	58,8	13	36,1		
	Foco de necrosis			6	46,2	2	11,8	8	22,2		
	Marginal	2	33,3	6	46,2			8	22,2		
	Escaso			1	7,7	2	11,8	3	8,3		
	Tejido adiposo										
	Necrosis moderada			2	15,4	2	11,8	4	11,1		
Páncreas	Foco hemorrágico					1	5,9	1	2,8		
	Capilares congestionados			1	7,7			1	2,8		
Ciegos pilóricos	Necrosis severa	1	16,7			9	52,9	10	27,8		
	Leve necrosis					2	11,8	2	5,6		
	Necrosis coagulativa					1	5,9	1	2,8		
	Epitelio										
	Desprendimiento de mucosa			4	30,8	3	17,6	7	19,4		
	Células granulares eosinofílicas degranuladas	2	33,3	4	30,8			6	16,7		
Intestino	Necrosis severa	3	50	3	23,1	10	58,8	16	44,4		
	Restos necróticos en el lumen	1	16,7	4	30,8			5	13,9		
	Necrosis moderada					1	5,9	1	2,8		
Músculo	Miositis					2	11,8	2	5,6		
	Foco de necrosis			1	7,7	1	5,9	2	5,6		

\* Total de muestras (histología): 36  
Color gris: Frecuencias mayores

**Tabla 13.** Niveles de manejo sanitario empleado en las piscigranjas estudiadas.

Instalaciones	Manejo	Piscigranjas		
		A	B	C
Sala de incubación de ovas	Tipo de agua	Primer uso <sup>a</sup> / clara	Primer uso / clara	Primer uso / turbia
	Presencia de pediluvio	+	-	-
	Limpieza y desinfección de artesas	+	+	-
	Desinfección de ovas	+	+	+
Juveniles y adultos en estanques	Tipo de agua	Primer y segundo uso <sup>c</sup>	Primer uso	Primer y segundo uso <sup>b</sup>
	Desinfección de red	+	+	-
	Recojo de animales muertos o moribundos	+	+	-
	Limpieza de estanques	+	+	-
Determinación de parámetros físico-químicos y microbiológicos del agua y sedimento (*)				
Capacitación de operarios				
		+	+	-
Nivel de manejo				
		Intermedio	Óptimo	Deficiente

<sup>a</sup> Toma de agua directamente del río.

<sup>b</sup> Sólo en algunos estanques.

<sup>c</sup> Mezcla de fuente de agua con el efluente del estanque anterior.

(\*) las piscigranjas no realizan la medición de parámetros como pH, amonio ni oxígeno, solo temperatura.

**Tabla 14.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos (FIAS) a *Y. ruckeri* en las piscigranjas estudiadas.

Piscigranja	n° de muestras analizadas	n° muestras positivas	FIAS (%)
A	65	10	15,4
B	34	22	64,7
C	55	47	85,5
<b>Total</b>	<b>154</b>	<b>79</b>	<b>51,3</b>

Nivel de significación según la prueba de Chi-cuadrado,  $p < 0,001$

**Tabla 15.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos (FIAS) a *Y. ruckeri* por mes de muestreo.

Mes	n° de muestras	FIAS (%)
Febrero	13	84,6
Marzo	22	54,5
Mayo	32	43,8
Junio	21	42,9
Julio	18	66,7
Agosto	14	35,7
Septiembre	16	50,0
Octubre	18	44,4
<b>Total</b>	<b>154</b>	<b>51,3</b>

Nivel de significación según la prueba de Chi-cuadrado,  $p = 0,150$

**Tabla 16.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos (FIAS) a *Y. ruckeri* según la estación temporal.

Estación temporal	n° de muestras	FIAS (%)
Seca	119	47,1
Lluviosa	35	65,7
<b>Total</b>	<b>154</b>	<b>51,3</b>

Nivel de Significación según la prueba de Chi-cuadrado,  $p = 0,052$

**Tabla 17.** Distribución de las muestras en las piscigranjas según la estación temporal.

Piscigranja	n° de muestras	FIAS (%)	
		Estación seca	Estación lluviosa
A	65	78,5	21,5
B	34	88,2	11,8
C	55	69,1	30,9
<b>Total</b>	<b>154</b>	<b>77,3</b>	<b>22,7</b>

Nivel de significación según la prueba de Chi-cuadrado,  $p=0,107$

**Tabla 18.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* según el origen de las ovas.

Origen de las ovas	n° de muestras	FIAS (%)
Importadas	89	77,5
Nacionales	65	15,4
<b>Total</b>	<b>154</b>	<b>51,3</b>

Nivel de significación según la prueba de Chi-cuadrado,  $p<0,001$

**Tabla 19.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* de acuerdo al manejo sanitario empleado en las piscigranjas.

Piscigranja	Manejo sanitario	n° de muestras	FIAS (%)
A	Intermedio	65	15,4
B	Optimo	34	64,7
C	Deficiente	55	85,5
<b>Total</b>		<b>154</b>	<b>51,3</b>

Nivel de significación según la prueba de Chi-cuadrado,  $p<0,001$



**Tabla 20.** Status de infección de la enfermedad entérica de la boca roja en relación a la temperatura del agua.

Status infección	n° de muestras	Temperatura (°C)
Negativo	75	11,59 ± 0,56
Positivo	79	11,14 ± 1,14
<b>Total</b>	<b>154</b>	<b>11,36 ± 0,93</b>

Significación según la prueba U de Mann-Whitney,  $p=0,025$

**Tabla 21.** Distribución de la temperatura del agua por piscigranja estudiada.

Piscigranja	n° de muestras	Temperatura (°C)
A	65	11,68 ± 0,35
B	34	10,41 ± 1,36
C	55	11,57 ± 0,66
<b>Total</b>	<b>154</b>	<b>11,36 ± 0,93</b>

Significación según la prueba Kruskal-Wallis,  $p<0,001$

**Tabla 22.** Análisis estratificado de la frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* con respecto al origen de las ovas y mes de muestreo.

Mes	Ovas importadas		Ovas nacionales	
	n° de muestras	FIAS (%)	n° de muestras	FIAS (%)
Febrero	9	100,0	4	50,0
Marzo	12	91,7	10	10,0
Mayo	17	76,5	15	6,7
Junio	13	61,5	8	12,5
Julio	10	100,0	8	25,0
Agosto	10	40,0	4	25,0
Septiembre	10	60,0	6	33,3
Octubre	8	100,0	10	0,0
<b>Total</b>	<b>89</b>	<b>77,5</b>	<b>65</b>	<b>15,4</b>
<b>p*</b>		0,001		0,235

\* Significación según la prueba de Likelihood Ratio

**Tabla 23.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos (FIAS) a *Y. ruckeri* según la procedencia de las ovas y estación temporal.

Estación temporal	Ovas importadas		Ovas nacionales	
	n° de muestras	FIAS (%)	n° de muestras	FIAS (%)
Seco	68	72,1	51	13,7
Lluvioso	21	95,2	14	21,4
<b>Total</b>	<b>89</b>	<b>77,5</b>	<b>65</b>	<b>15,4</b>
<b>p*</b>		0,034		0,438

\* Significación según la prueba exacta de Fisher

**Tabla 24.** Frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* según la procedencia de las ovas y manejo sanitario empleado por las piscigranjas.

Piscigranja	Manejo sanitario	Ovas importadas		Ovas nacionales	
		n° de muestras	FIAS (%)	n° de muestras	FIAS (%)
A	Intermedio	-	-	65	15,4
B	Optimo	34	64,7	-	-
C	Deficiente	55	85,5	-	-
<b>Total</b>		<b>89</b>	<b>77,5</b>	<b>65</b>	<b>15,4</b>
<b>p*</b>			0,035		-

\* Significación según la prueba exacta de Fisher

**Tabla 25.** Análisis estratificado de la frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* con respecto a los meses de muestreo y estación temporal.

Mes	Estación Seca		Estación Lluviosa	
	n° de muestras	FIAS (%)	n° de muestras	FIAS (%)
Febrero	-	-	13	84,6
Marzo	-	-	22	54,5
Mayo	32	43,8	-	-
Junio	21	42,9	-	-
Julio	18	66,7	-	-
Agosto	14	35,7	-	-
Septiembre	16	50,0	-	-
Octubre	18	44,4	-	-
<b>Total</b>	<b>119</b>	<b>47,1</b>	<b>35</b>	<b>65,7</b>
<b>p</b>		0,565*		0,139**

\* Significación según la prueba Chi-cuadrado de Pearson

\*\* Significación según la prueba exacta de Fisher

**Tabla 26.** Análisis estratificado de la frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* con respecto al origen de las ovas y estación temporal.

Origen de ovas	Estación Seca		Estación Lluviosa	
	n° de muestras	FIAS (%)	n° de muestras	FIAS (%)
Importadas	68	72,1	21	95,2
Nacionales	51	13,7	14	21,4
<b>Total</b>	<b>119</b>	<b>47,1</b>	<b>35</b>	<b>65,7</b>
<b>p</b>	<0,001*		<0,001**	

\* Significación según la prueba Chi-cuadrado de Pearson

\*\* Significación según la prueba exacta de Fisher

**Tabla 27.** Análisis estratificado de la frecuencia de infección de animales sintomáticos a *Y. ruckeri* con respecto al manejo sanitario de la piscigranja y estación temporal.

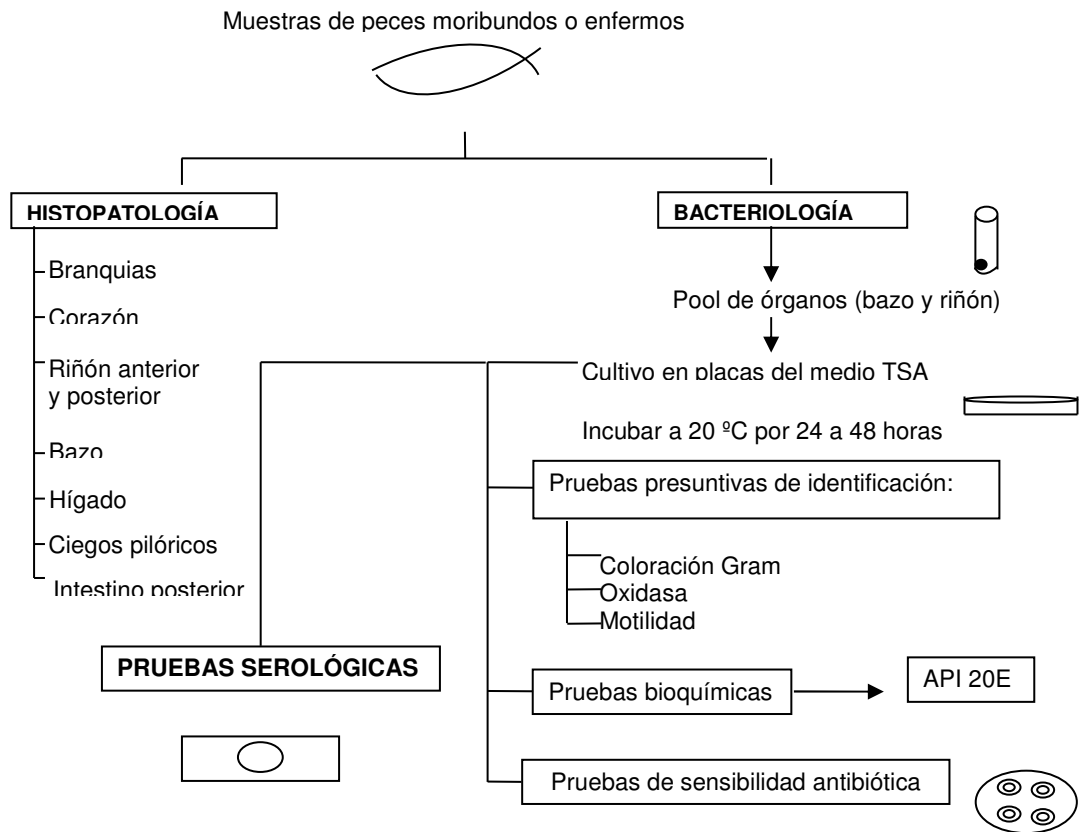
Manejo sanitario	Estación Seca		Estación Lluviosa	
	n° de muestras	FIAS (%)	n° de muestras	FIAS (%)
Deficiente	38	81,6	17	94,1
Intermedio	51	13,7	14	21,4
Optimo	30	60,0	4	100,0
<b>Total</b>	<b>119</b>	<b>47,1</b>	<b>35</b>	<b>65,7</b>
<b>p</b>	<0,001*		<0,001**	

\* Significación según la prueba Chi-cuadrado de Pearson

\*\* Significación según la prueba de Likelihood Ratio

## **XIII. ANEXOS**

## Flujograma de estudio para *Yersinia ruckeri*.



## FORMULARIO ANAMNÉSICO

Fecha:

Edad afectada: alevín ( ), juvenil ( ), adulto ( ).

Tamaño: \_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_

### **Signos clínicos:**

Comportamiento

Distribución normal ( ), cerca de la superficie ( ), en el ingreso del agua ( ), flotando cerca de la salida ( ), otros \_\_\_\_\_ .

Respiración: tomando aire de la superficie ( ), ritmo respiratorio elevado ( ).

Apetito: normal ( ), debajo de lo normal ( ).

### **Mortalidad diaria:**

### **Signos externos:**

PIEL

Color de la piel: normal ( ), decolorada ( ), eritematosa ( ), con mucus azulado ( ), con manchas blanco grisáceas ( ), otros: \_\_\_\_\_

Presencia de anomalías: vesículas ( ), hongos ( ), abultamientos ( ), puntos blancos ( ), puntos negros ( ), áreas necrosadas ( ), úlceras superficiales ( ), úlceras profundas ( ), úlceras mayores de 1 cm de diámetro ( ), aletas necrosadas ( ), aleta adiposa ulcerada ( ), blanquecina ( ), pedúnculo normal ( ), pedúnculo lesionado ( ), exoftalmia ( ), vientre abalonado ( ), ano prolapsado ( ), ano rojizo ( ), con descarga mucoide ( ), con descarga sanguinolenta ( ).

Descripción de la lesión (o lesiones) y el lugar del cuerpo: \_\_\_\_\_

OJOS: Color y aspecto: \_\_\_\_\_

BOCA: Color y aspecto de boca y cavidad bucal: \_\_\_\_\_

BRANQUIAS: Color y aspecto macroscópico: \_\_\_\_\_

Características al microscopio: \_\_\_\_\_

Otros signos externos: \_\_\_\_\_

TRATAMIENTO: ( ), droga \_\_\_\_\_

dosis \_\_\_\_\_, frecuencia: \_\_\_\_\_, fecha de tratamiento: \_\_\_\_\_



## FORMULARIO ANAMNÉSICO

Fecha:

Edad afectada: alevín ( ), juvenil ( ), adulto ( ).

Tamaño: \_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_

### **Signos clínicos:**

Comportamiento

Distribución normal ( ), cerca de la superficie ( ), en el ingreso del agua ( ), flotando cerca de la salida ( ), otros \_\_\_\_\_ .

Respiración: tomando aire de la superficie ( ), ritmo respiratorio elevado ( ).

Apetito: normal ( ), debajo de lo normal ( ).

### **Mortalidad diaria:**

### **Signos externos:**

PIEL

Color de la piel: normal ( ), decolorada ( ), eritematosa ( ), con mucus azulado ( ), con manchas blanco grisáceas ( ), otros: \_\_\_\_\_

Presencia de anomalías: vesículas ( ), hongos ( ), abultamientos ( ), puntos blancos ( ), puntos negros ( ), áreas necrosadas ( ), úlceras superficiales ( ), úlceras profundas ( ), úlceras mayores de 1 cm de diámetro ( ), aletas necrosadas ( ), aleta adiposa ulcerada ( ), blanquecina ( ), pedúnculo normal ( ), pedúnculo lesionado ( ), exoftalmia ( ), vientre abalonado ( ), ano prolapsado ( ), ano rojizo ( ), con descarga mucoide ( ), con descarga sanguinolenta ( ).

Descripción de la lesión (o lesiones) y el lugar del cuerpo: \_\_\_\_\_

OJOS: Color y aspecto: \_\_\_\_\_

BOCA: Color y aspecto de boca y cavidad bucal: \_\_\_\_\_

BRANQUIAS: Color y aspecto macroscópico: \_\_\_\_\_

Características al microscopio: \_\_\_\_\_

Otros signos externos: \_\_\_\_\_

TRATAMIENTO: ( ), droga \_\_\_\_\_

dosis \_\_\_\_\_, frecuencia: \_\_\_\_\_, fecha de tratamiento: \_\_\_\_\_

## FORMULARIO ANAMNÉSICO

Fecha:

Edad afectada: alevín ( ), juvenil ( ), adulto ( ).

Tamaño: \_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_

### **Signos clínicos:**

Comportamiento

Distribución normal ( ), cerca de la superficie ( ), en el ingreso del agua ( ), flotando cerca de la salida ( ), otros \_\_\_\_\_ .

Respiración: tomando aire de la superficie ( ), ritmo respiratorio elevado ( ).

Apetito: normal ( ), debajo de lo normal ( ).

### **Mortalidad diaria:**

### **Signos externos:**

PIEL

Color de la piel: normal ( ), decolorada ( ), eritematosa ( ), con mucus azulado ( ), con manchas blanco grisáceas ( ), otros: \_\_\_\_\_

Presencia de anomalías: vesículas ( ), hongos ( ), abultamientos ( ), puntos blancos ( ), puntos negros ( ), áreas necrosadas ( ), úlceras superficiales ( ), úlceras profundas ( ), úlceras mayores de 1 cm de diámetro ( ), aletas necrosadas ( ), aleta adiposa ulcerada ( ), blanquecina ( ), pedúnculo normal ( ), pedúnculo lesionado ( ), exoftalmia ( ), vientre abalonado ( ), ano prolapsado ( ), ano rojizo ( ), con descarga mucoide ( ), con descarga sanguinolenta ( ).

Descripción de la lesión (o lesiones) y el lugar del cuerpo: \_\_\_\_\_

OJOS: Color y aspecto: \_\_\_\_\_

BOCA: Color y aspecto de boca y cavidad bucal: \_\_\_\_\_

BRANQUIAS: Color y aspecto macroscópico: \_\_\_\_\_

Características al microscopio: \_\_\_\_\_

Otros signos externos: \_\_\_\_\_

TRATAMIENTO: ( ), droga \_\_\_\_\_

dosis \_\_\_\_\_, frecuencia: \_\_\_\_\_, fecha de tratamiento: \_\_\_\_\_

## GLOSARIO

### DEFINICIONES

- **ALEVÍN:** Estado larval de peces desde la eclosión hasta el final de la dependencia del vitelo como fuente de nutrición.
- **ANEMIA:** Disminución de la cantidad de la hemoglobina oxigenada en un volumen dado de sangre. Esta reducción afecta el número de hematíes, a la cantidad de hemoglobina y al volumen de hematíes.
- **BACTERIEMIA:** Es cuando los microorganismos circulan por la corriente sanguínea del animal, lo cual no significa necesariamente que se halle enfermo.
- **CARIOLISIS:** La cromatina nuclear parece como si se disolviera, extinguiéndose progresivamente el núcleo.
- **CÉLULAS LINFOIDES:** Son células que están involucradas en la producción de inmunidad, se encuentran en tejido linfoide, tales como bazo, timo y medula.
- **CÉLULAS MONONUCLEARES:** Células con un solo núcleo, tales como: linfocitos, monocitos, macrófagos y células plasmáticas.
- **CONGESTIÓN VENOSA:** Es la acumulación de sangre en el tramo venoso del árbol vascular.
- **GOTAS HIALINAS:** Múltiples glóbulos amorfos, densos de material eosinófilo en el citoplasma. Estos cambios heterogéneos tienen en común sólo la presencia de un material proteínaceo no estructuralizado llamado hialina. Las sustancias hialinas pueden ser identificadas como proteínas plasmáticas condensadas en depósitos de albúmina en los túbulos renales.
- **DEGENERACIÓN GRASA:** El metabolismo lipídico de las células es interferido, y la grasa se acumula en el interior de éstas. En algunos casos simplemente se hace ostensible la grasa ya existente normalmente en el citoplasma. Microscópicamente se observa el citoplasma de las células hepáticas que contienen innumerables vacuolas pequeñas agrupadas alrededor del núcleo.
- **EDEMA:** Acumulación anormal de volumen excesivo de agua en células, tejidos o cavidades serosas.
- **FRIABLE:** Propiedad de un material que lo hace fácilmente rompible o desmenuzable.
- **EPIZOÓTICO (EPIZOOTIA):** Enfermedad contagiosa que ataca a gran número de animales a un mismo tiempo, abarca áreas grandes y se propaga con mucha rapidez.

- **ESTASIS SANGUÍNEO:** Detención total de la corriente sanguínea en la circulación local.
- **HEMORRAGIA PETEQUIAL:** Son hemorragias puntiformes que ocurren en gran número de procesos, constituyendo un signo microscópico notable.
- **HEPATOCITOS:** Células hepáticas.
- **HIPERPLASIA:** Es el aumento del número de células en un órgano o tejido.
- **HIPERTROFIA:** Es un aumento del tamaño de las células o de las fibras, a consecuencia de lo cual el órgano aumenta de tamaño.
- **INFECCIÓN:** Es la alteración que producen en el organismo los agentes vivos patógenos, tales como bacterias y virus.
- **INFLAMACIÓN:** Es la reacción defensiva del tejido vivo frente a una agresión por parte de una noxa. Los signos cardinales de enrojecimiento, calor, hinchazón y dolor, resultan del movimiento del fluido plasmático y celular fuera del sistema vascular dentro de los tejidos.  
La reacción inflamatoria local presenta dos fases: la primera es destruir y eliminar la noxa y la segunda es reparar las lesiones provocadas en los tejidos.
- **MACRÓFAGO:** Esta palabra procede del griego y significa gran comedor (macros + phageinla). Su función principal es fagocitar todos los cuerpos extraños que se introducen en el organismo como las bacterias y sustancias de desecho de los tejidos. Los macrófagos son fagocitos junto con los neutrófilos y otras células.
- **MELANOSIS:** Aumento patológico de la pigmentación de los tejidos por depósitos de melanina u otros pigmentos.
- **MIOSITIS:** Es la inflamación muscular causada por infecciones bacterianas, parasitarias o enfermedad autoinmune.
- **NECROSIS:** Es la muerte del tejido en un animal vivo. La degeneración celular llega a necrosis celular cuando se alcanza el punto de irreversibilidad en el proceso degenerativo.
- **PATOGÉNESIS:** Origen y desarrollo de las enfermedades.
- **PATOGNOMÓNICO:** Signo específico de una enfermedad que basta por sí solo para sentar el diagnóstico.
- **PICNOSIS NUCLEAR:** Núcleo más pequeño y denso hasta que aparece como una masa sólida intensamente teñida con los colorantes básicos.
- **RENOMEGALIA:** Incremento patológico del tamaño del riñón.

- **SINTOMÁTICO:** Relativo o perteneciente al síntoma.